



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :

Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :

Mme PRANUDDA PIMSEE

le jeudi 17 juillet 2014

Titre :

ETUDE DU COMPORTEMENT DES HYDROCARBURES
AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) LORS DU DEVERSEMENT
ACCIDENTEL D'HYDROCARBURES EN EAUX CONTINENTALES

Ecole doctorale :

Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (L.C.A.)

Directeur(s) de Thèse :

MME MIREILLE VIGNOLES

MME MARIE LINE DELIA

Rapporteurs :

Mme HÉLÈNE CARRERE, INRA NARBONNE

M. REGIS MOILLERON, UNIVERSITE PARIS 12

Membre(s) du jury :

Mme JEAN KALLERHOFF, INP TOULOUSE, Président

M. CHRISTIAN VIGNOLES, COMPAGNIE GENERALE DES EAUX, Membre

Mme MARIE LINE DELIA, INP TOULOUSE, Membre

Mme MIREILLE VIGNOLES, INP TOULOUSE, Membre

Tout d'abord, je voudrais remercier Le Professeur Régis Moilleron et la Directrice de Recherche Hélène Carrere qui ont accepté d'être les rapporteurs de mon mémoire de thèse. Je suis également reconnaissante au Professeur Jean Kallerhoff d'avoir accepté d'être examinateur de mon travail de thèse.

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle unité mixte de recherche INRA (UMR INRA 1010 / INP-ENSIACET) et du Laboratoire de Génie Chimique unité de recherche CNRS (UMR CNRS 5503 / UPS / INP-ENSIACET) à Toulouse. Il a été dirigé par Mireille Montréjaud-Vignoles et Marie-Line Delia. Je leur exprime ma sincère reconnaissance pour m'avoir accueillie au sein de leurs équipes. Mes travaux ont également été encadrés par Pascale de Caro et Caroline Sablayrolles que je tiens également à remercier.

Ce travail a été financé par le Ministère des Sciences et Technologies du Gouvernement Royal de Thaïlande via une bourse d'études. Je remercie la Faculté des Sciences et de Technologies, de l'Université de Technologie Rajamangala Krunghthep à Bangkok (Thaïlande) pour m'avoir permis de réaliser ce travail de thèse en France. Je remercie également le Service des affaires éducatives de l'Ambassade Royale de Thaïlande en France qui s'est occupé de toute la partie administrative lors de cette thèse.

Cette thèse s'est inscrite au sein du projet ANR MIGR'HYCAR (MIGRation de nappes d'HYdroCARbure). Je remercie l'ensemble des partenaires de ce projet : ARTELIA (anciennement SOGREAH), Veolia Environnement Recherche et Innovation, (VERI), le Laboratoire d'Hydraulique Saint-Venant (LHSV), le CENTre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux (CEDRE), EDF et TOTAL. Je remercie particulièrement Julien Guyomarch pour sa disponibilité et sa gentillesse.

J'ai éprouvé beaucoup de plaisir au cours de ce travail de thèse. Ce plaisir, je le dois en partie à toutes les personnes que j'ai côtoyées au Laboratoire. Je remercie notamment Claire Vialle, Audrey Breton et Stéphanie Deffontis pour leur aide et leurs conseils lorsque j'avais des difficultés au laboratoire.

Naturellement, je voudrais remercier mes proches, toute ma famille, pour leur soutien, et leurs encouragements qui m'ont permis d'arriver au bout de cette thèse.

Sommaire général

INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE A. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
1 DEVERSEMENT D'HYDROCARBURES	9
1.1 Fréquence des pollutions en eaux continentales	9
1.2 Principaux types de produits accidentellement déversés	9
1.3 Principales causes des pollutions.....	11
2 GENERALITES SUR LES HYDROCARBURES	12
2.1 Hydrocarbures de pétrole	12
2.2 Bio-carburants	15
3 HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES	16
3.1 Structure des HAP.....	16
3.2 Origine des HAP	17
3.3 Propriétés physico-chimiques des HAP	18
3.4 Systèmes aquatiques et HAP	18
3.5 Toxicité des HAP et Réglementation	20
4 ANALYSES DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES DANS LES EAUX.....	22
4.1 Extraction	22
4.2 Analyse.....	23
4.3 Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)	25
5 CONCLUSION	29
6 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	30
7 LISTE DES FIGURES	34

8	LISTE DES TABLEAUX	35
PARTIE B. CARACTERISATION DES HYDROCARBURES ET ETUDE DU COMPORTEMENT.....37		
CHAPITRE I. CARACTERISATION DES HYDROCARBURES BRUTS.....42		
1.1	Matériel et méthodes.....	42
1.2	Résultats et discussions.....	44
CHAPITRE II. CINETIQUES DE TRANSFERT DES HYDROCARBURES DANS L'EAU.....49		
2.1	Matériel et méthodes.....	49
2.2	Résultats et discussion.....	55
CHAPITRE III. REPARTITION DES HAP SELON LES DIFFERENTES PHASES (DISSOUTE, SURNAGEANTE ET EVAPOREE) ET TENSION SUPERFICIELLE.....71		
3.1	Matériels et méthodes.....	71
3.2	Résultats et interprétations.....	76
CHAPITRE IV. CONCLUSION.....85		
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....87		
LISTE DES FIGURES.....89		
LISTE DES TABLEAUX.....91		
PARTIE C. INFLUENCE DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX...91		
CHAPITRE I. ÉTUDE DE LA SOLUBILISATION DES HYDROCARBURES EN FONCTION DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX.....95		
1.1	Matériel et méthodes.....	95
1.2	Résultats et interprétation.....	99
CHAPITRE II. ÉTUDE DU COMPORTEMENT DES HYDROCARBURES EN EAU CONTINENTALE.....107		
2.1	Matériel et méthodes.....	107
2.2	Résultats et discussion.....	109

CHAPITRE III. INFLUENCE D'UN AJOUT D'HYDROCARBURES SUR LA FLORE BACTERIENNE D'UNE EAU CONTINENTALE.....	114
3.1 Matériel et méthodes.....	121
3.2 Résultats et interprétation.....	125
CHAPITRE IV. CONCLUSION.....	135
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	137
TITRE DES FIGURES.....	139
TITRE DES TABLEAUX.....	140
CONCLUSION GENERALE.....	141
ANNEXES I.....	147
ANNEXES II.....	159
ANNEXES III.....	163
ANNEXES IV.....	167
PRODUCTION SCIENTIFIQUE AU COURS DE LA THESE.....	173

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'application de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) et l'obligation de surveillance de la qualité de l'eau pour la consommation humaine et les activités industrielles, telles que la production d'eau potable par exemple, entraînent une forte demande pour des systèmes d'évaluation et de suivi de la qualité de l'eau.

Pour de grands accidents d'origine pétrolière se produisant principalement en milieu océanique ou côtier, des moyens importants de suivi et de gestion de la crise sont rapidement mis en place. En effet, ces événements bénéficient de la pression du grand public qui résulte de l'impact médiatique des grands événements et leurs conséquences tels que les catastrophes de l'Erika dans le Golfe de Gascogne (1999) ou de la plateforme pétrolière Deepwater Horizon dans le Golfe du Mexique (2011).

La gestion des accidents de moindre importance, bien que beaucoup plus nombreux, est toujours assurée par des moyens limités, notamment en ce qui concerne les événements de pollution des eaux continentales. Pourtant, les pollutions accidentelles impliquant des hydrocarbures représentent de l'ordre de 50 % des événements (Bonnemains et al., 2011). Face à des événements tels que le rejet accidentel d'hydrocarbures survenu au printemps 2008 à Donges dans l'estuaire de la Loire, les industriels et les pouvoirs publics sont souvent démunis pour juguler l'impact de ces accidents et les gérer lorsque leur emprise et leur dynamique sont mal connues. En effet, ils ne disposent que très rarement d'outils d'aide à la décision performants et adaptés aux interventions opérationnelles en rivière.

C'est donc pour répondre à ce besoin que le projet MIGR'HYCAR (Gestion opérationnelle des risques liés aux migrations de nappes d'hydrocarbures dans les eaux continentales) a été développé. Il a été supporté financièrement par l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR) dans le cadre du programme PRECODY 2008, dont les partenaires sont les suivants : ARTELIA à Grenoble (anciennement SOGREAH), Veolia Environnement Recherche et Innovation à Paris (VERI), le Laboratoire de Chimie Agroindustrielle à Toulouse (LCA), le Laboratoire d'Hydraulique Saint-Venant à Chatou (LHSV), le Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux à Brest (CEDRE), EDF à Chatou et TOTAL Petrochemicals à Lacq. Les objectifs de ce projet étaient de :

- fournir une base de données sur le comportement physico-chimique des hydrocarbures,
- développer un outil numérique de suivi de nappe d'hydrocarbures,
- créer un logiciel opérationnel d'aide à la décision et à la gestion de la ressource en eau en situation de crise.

La thèse présentée dans ce mémoire s'inscrit dans le cadre de ce projet (Figure 1) et a pour but l'étude du comportement des nappes d'hydrocarbures en milieu expérimental pour les eaux continentales. L'objet est de réunir l'ensemble des données expérimentales afin de produire une base de données de référence, qui servira de support aux outils de modélisation développés dans le cadre du projet.

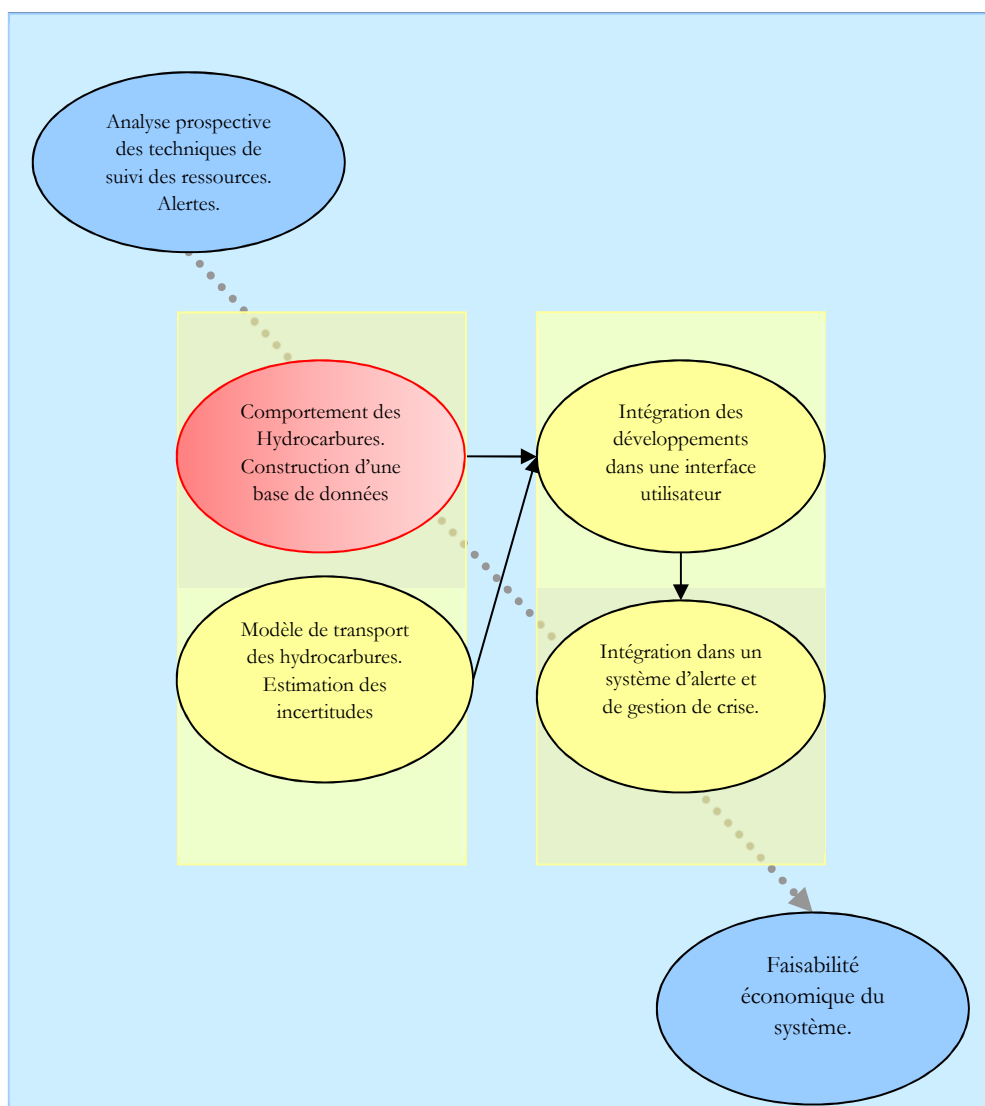


Figure 1. Situation de la thèse au sein du projet MIGR'HYCAR (cercle rouge)

Ce mémoire se décompose en trois parties.

Le contexte de l'étude est présenté ci-après, au sein de la première partie intitulée « Partie A. Synthèse bibliographique ». Cette partie présente les généralités sur les hydrocarbures, les processus physiques mis en jeu lors d'une pollution, les hydrocarbures aromatiques polycycliques puis fait un état de l'art de la connaissance des méthodes analytiques disponibles pour le suivi des dérivés d'hydrocarbures.

La deuxième partie « Partie B. » traite de la caractérisation des hydrocarbures pétroliers et de l'étude de leur comportement. Les essais expérimentaux à l'échelle du laboratoire via des cinétiques de solubilisation sont présentés pour différents hydrocarbures. Puis, des bilans massiques en hydrocarbures aromatiques polycycliques et dérivés sont réalisés après déversement de produits pétroliers dans l'eau en condition laboratoire.

La troisième partie « Partie C. » concerne les essais en conditions réelles. Dans un premier temps, l'étude de la solubilisation des hydrocarbures en fonction des paramètres caractéristiques du milieu (Température, Salinité, Matière en Suspension, Ratio) est réalisée via un plan d'expérience. Ensuite, le comportement des hydrocarbures en eau de rivière est étudié. Enfin, l'impact d'une pollution aux hydrocarbures sur la microflore naturelle est évalué.

Partie A.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

SOMMAIRE DE LA PARTIE A

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
1 DEVERSEMENT D'HYDROCARBURES.....	9
1.1 Fréquence des pollutions en eaux continentales	9
1.2 Principaux types de produits accidentellement déversés	9
1.3 Principales causes des pollutions.....	11
2 GENERALITES SUR LES HYDROCARBURES	12
2.1 Hydrocarbures de pétrole.....	12
2.1.1 Origine	12
2.1.2 Propriétés.....	12
2.1.3 Comportement.....	14
2.1.4 Toxicité des hydrocarbures	14
2.2 Bio-carburants	15
3 HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES.....	16
3.1 Structure des HAP.....	16
3.2 Origine des HAP	17
3.3 Propriétés physico-chimiques des HAP	18
3.4 Systèmes aquatiques et HAP	18
3.5 Toxicité des HAP et Réglementation	20
4 ANALYSES DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES DANS LES EAUX	22
4.1 Extraction	22
4.1.1 Extraction liquide-liquide	22
4.1.2 Extraction sur phase solide.....	22
4.1.3 Micro-extraction sur phase solide	22
4.2 Analyse.....	23
4.2.1 Méthodes basées sur la séparation en phase liquide.....	23
4.2.2 Méthodes basées sur la séparation en phase gazeuse.....	24
4.3 Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE).....	25
4.3.1 Principe de la SBSE	25

4.3.2	SBSE pour l'analyse des HAP	26
5	CONCLUSION	29
6	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	30
7	LISTE DES FIGURES.....	34
8	LISTE DES TABLEAUX	35

1 DEVERSEMENT D'HYDROCARBURES

Que ce soit à l'échelle européenne ou mondiale, les déversements accidentels en eaux continentales sont plus mal renseignés qu'en eaux marines, du fait de leur moins grande ampleur. Ce chapitre présente une étude statistique des déversements d'hydrocarbures dans les eaux continentales. Cette étude issue du projet MIGR'HYCAR est largement inspirée du travail du CEDRE, partenaire de ce projet.

1.1 FREQUENCE DES POLLUTIONS EN EAUX CONTINENTALES

A l'échelle mondiale, le nombre annuel d'accidents recensés, de l'ordre d'une trentaine à une quarantaine, est relativement stable. Seule l'année 2008 fait figure d'exception avec une cinquantaine de pollutions identifiées excédant 7 tonnes. Ce même constat est observé à l'échelle européenne avec une moyenne annuelle de 10 déversements significatifs recensés par an (Figure A.1).

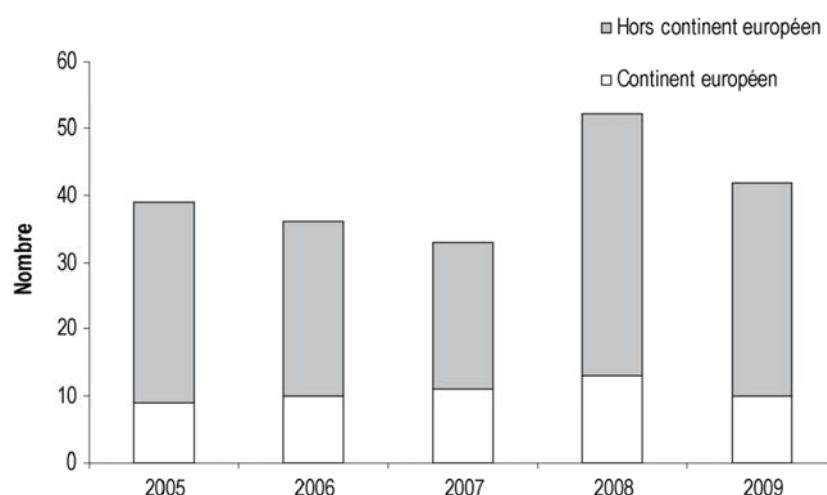


Figure A.1. Evolution pluriannuelle du nombre de déversements recensés en eaux continentales et estuariennes (quantité > 7 tonnes, tous produits confondus) dans la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)

1.2 PRINCIPAUX TYPES DE PRODUITS ACCIDENTELLEMENT DEVERSES

Considérant les volumes annuels déversés accidentellement, les pollutions impliquant des hydrocarbures prédominent nettement. Elles représentent environ 90% des apports annuels de polluants dans les eaux continentales ou estuariennes, loin devant tous les autres déversements chimiques qui constituent l'autre principale source de pollution (Figure A.2).

Ces résultats suggèrent une nette dominance des produits pétroliers par rapport aux autres polluants pour les déversements accidentels survenus au cours des années 2005 à 2009. **Ceci confirme, en conséquence, l'importance de la problématique des déversements d'hydrocarbures dans les eaux continentales et estuariennes.**

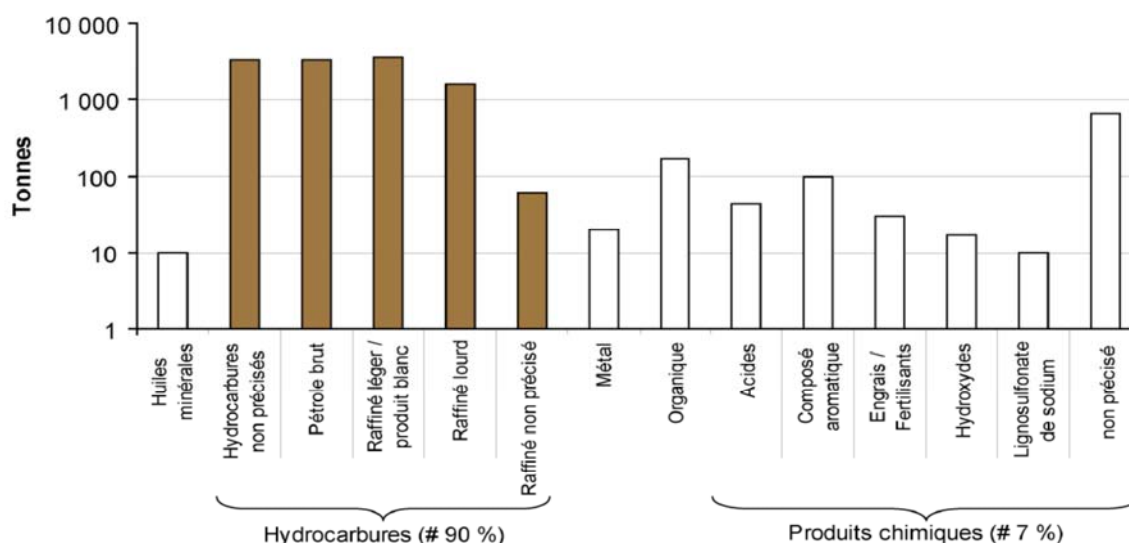


Figure A.2. Quantités (tonnes) déversées par catégories de polluants, suite aux accidents significatifs identifiés en eaux continentales et estuariennes (ampleur > 7 tonnes et suffisamment renseignés) en Europe au cours de la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)

En outre, l'étude statistique montre que les produits pétroliers les plus couramment déversés dans les eaux continentales et estuariennes sont les produits raffinés dits "produits blancs". Ces produits sont impliqués dans 40% des pollutions d'hydrocarbures, avec notamment le gazole qui à lui seul représente 27% des déversements d'hydrocarbures en eaux continentales. Les produits bruts viennent en deuxième position avec 21% des pollutions. Enfin, les produits raffinés lourds représentent 14% des pollutions (Figure A.3).

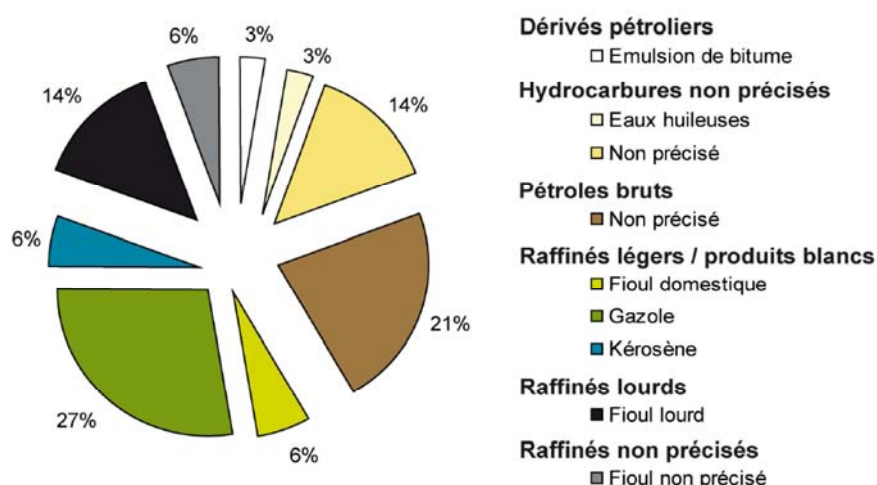


Figure A.3. Fréquence (%), par type d'hydrocarbures, des événements de déversements accidentels significatifs (ampleur > 7 tonnes, suffisamment renseignés) ayant entraîné une pollution d'eaux continentales ou estuariennes en Europe, pour la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)

1.3 PRINCIPALES CAUSES DES POLLUTIONS

Généralement, les pollutions aux hydrocarbures dans les eaux continentales ont pour origine (Figure A.4) :

- l'usure des structures (usure, fissure ou corrosion) dans 22% des événements. L'exemple de l'effondrement d'un bac de stockage d'un dépôt pétrolier à Ambès (Gironde) survenu en 2007 illustre bien ce phénomène ;
- le facteur humain, regroupant à la fois les erreurs humaines (erreurs de manipulation ou d'opération) et les actes intentionnels de malveillance, représente 20% des pollutions. La rupture d'un oléoduc russe en 2006 suite à un glissement de terrain provoqué par des travaux de construction illustre bien une erreur humaine. Cet accident a provoqué un déversement de 340 m³ de pétrole brut dans une rivière ;
- les collisions de navires sont à l'origine de 14% des pollutions, comme par exemple le cas survenu en France dans l'estuaire de la Loire en janvier 2006, où le pétrolier "Happy Bride" et le butanier "Sigmagas" sont entrés en collision ;
- les accidents de la route et notamment ceux impliquant des camions citernes sont impliqués dans 10% des pollutions accidentelles pour des pollutions d'ampleur importante.

S'agissant des déversements de plus faible ampleur, ce constat nécessite d'être nuancé. Selon l'association des Robins des Bois (Bonnemains et al. 2011), ces pollutions sont principalement causées par les accidents de la route impliquant des poids lourds et dans une moindre mesure la vétusté et donc l'usure des installations de type "cuve à fioul" pour le chauffage des particuliers. Le facteur humain intervient en troisième position.

Malgré une différence de hiérarchisation des principales causes de pollutions accidentelles entre les pollutions de grande ampleur (> 7 tonnes) et de faible ampleur (< 7 tonnes), les causes principales restent identiques.

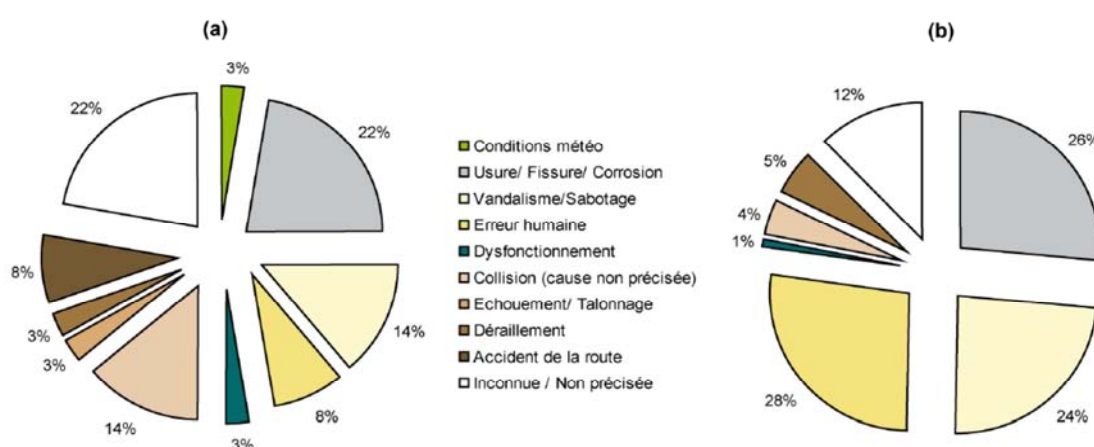


Figure A.4. Fréquence (%), par type de cause, (a) des événements de déversements accidentels significatifs (ampleur > 7 tonnes, suffisamment renseignés) et (b) des quantités d'hydrocarbures déversées en eaux continentales ou estuariennes en Europe, pour la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)

2 GENERALITES SUR LES HYDROCARBURES

2.1 HYDROCARBURES DE PETROLE

2.1.1 Origine

Le pétrole est une roche liquide carbonée, ou huile minérale, constituée d'une multitude de molécules composées majoritairement d'atomes de carbone et d'hydrogène appelés **hydrocarbures**. Energie fossile, son exploitation est l'un des piliers de l'économie industrielle contemporaine, car il fournit la quasi-totalité des carburants liquides et est utilisé dans la production chimique de polymères.

Suite à la sédimentation de matières organiques végétales et animales et à leur enfouissement sous d'autres couches sédimentaires, la pétrogénèse commence. La décomposition de ces matières organiques provoque une perte d'oxygène dans le milieu induisant des réactions réductrices. Puis, sous l'action combinée de la chaleur (60 °C) et de la pression (enfouissement d'environ 1 500 à 2 000 mètres), la transformation en **hydrocarbures** débute. Ce pétrole en formation est moins dense que la roche qui l'entoure, il va donc migrer vers la surface. Si le pétrole est arrêté dans sa progression par des roches imperméables, il se concentre pour former des poches qui sont à l'origine des réservoirs actuels.

2.1.2 Propriétés

Les hydrocarbures sont des composés organiques uniquement constitués d'atome de carbone et d'hydrogène. Ils possèdent une formule brute de type C_nH_m , où n et m sont 2 entiers naturels. Ils peuvent être classés en fonction de la forme de leur structure (linéaires, cycliques) et de leur degré de saturation.

2.1.2.1 Classification selon la structure chimique

Le pétrole brut est un mélange complexe d'hydrocarbures de différentes familles (aliphatiques, alicycliques, aromatiques) comportant de 1 à 40 atomes de carbone, associés à des composés oxygénés, azotés et sulfurés ou métalliques (vanadium et nickel) (Gomez 2010). La Figure A.5 présente cette composition générale. Les hydrocarbures aliphatiques sont constitués de chaînes carbonées linéaires qui peuvent être saturées ou posséder une ou plusieurs doubles ou triples liaisons (alcane/alcène/alcynes). Les hydrocarbures alicycliques peuvent également être saturés ou posséder une ou plusieurs doubles liaisons, on parle alors respectivement de cyclane et de cyclène (Arnaud 1983). Cependant, la structure cyclique est incompatible avec les triples liaisons du fait de leur géométrie linéaire, à moins que la molécule ne contienne un minimum de 8 carbones (cyclynes). Il existe aussi des hydrocarbures bi- voir tricycliques. Enfin, la série aromatique ne comprend que des hydrocarbures insaturés. Elle rassemble tous les composés renfermant un ou plusieurs noyaux aromatiques. Les hydrocarbures aromatiques contenant plusieurs noyaux aromatiques accolés sont appelés hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).

Les alcanes (linéaires, ramifiés et cycliques) sont généralement majoritaires, les composés aromatiques constituant classiquement de 20 à 45% de ces mélanges en poids. Les chaînes insaturées telles que les alcènes, les alcynes et leurs dérivés cycliques sont par contre rarement présents dans les pétroles en raison de leur faible stabilité (Olivier 2004).

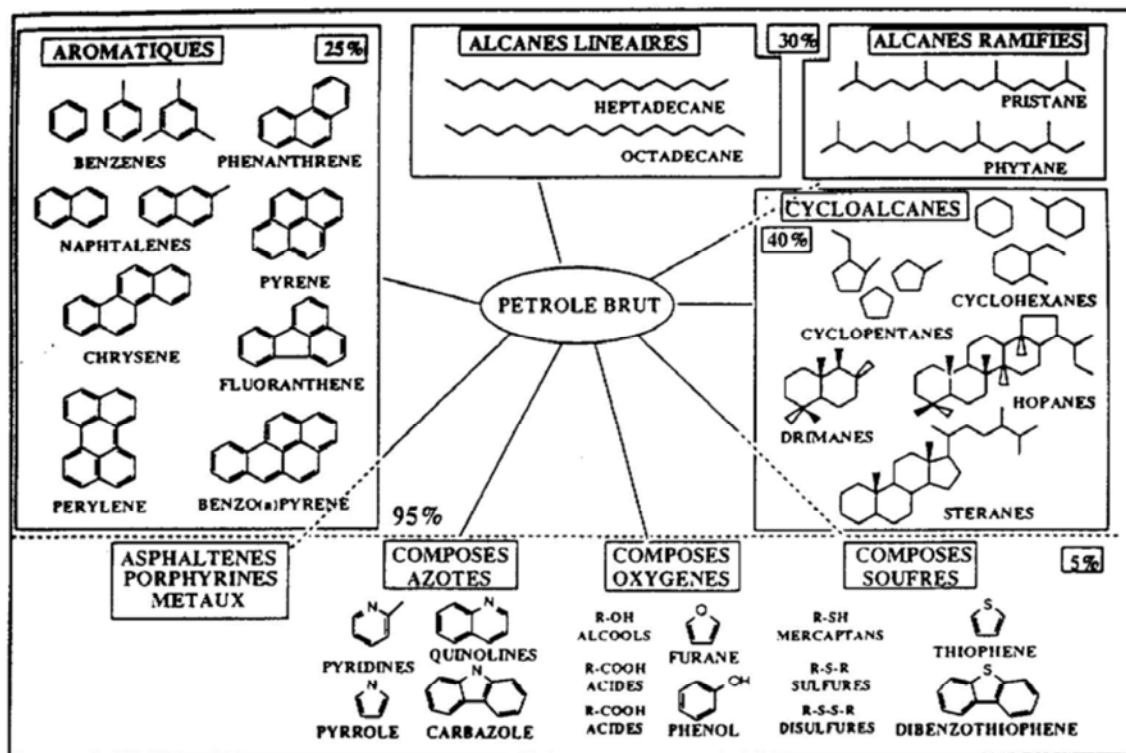


Figure A.5. Ensemble des hydrocarbures présents dans les pétroles bruts (d'après Bertrand and Mille 1989)

On distingue essentiellement les formes aliphatiques (paraffinique), naphthalénique (cyclanes) et aromatiques (Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylène et HAP).

2.1.2.2 Classification selon la coupe de distillation

Le raffinage consiste, par des opérations de distillation, à séparer le pétrole brut en produits intermédiaires. Les hydrocarbures ont une température d'ébullition variant en fonction de la longueur de chaîne carbonée. Il est donc aisé de les séparer par ce processus industriel. Même si l'objectif du raffinage est d'obtenir des produits de composition constante, utilisables par l'industrie, les coupes pétrolières peuvent avoir des compositions différentes selon la provenance du pétrole brut et les étapes de raffinage réalisées.

La distillation fractionnée sépare (Figure A.6) :

- les produits légers (gaz, naphas, essences) ;
- les produits moyens (kérosènes, gazoles, fiouls domestiques) ;
- les produits lourds (fiouls lourds) ;
- les résidus (bitumes, goudrons).

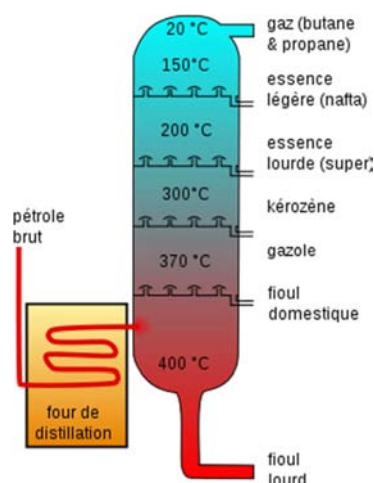


Figure A.6. Coupes pétrolières lors de la distillation

2.1.3 Comportement

Les déversements d'hydrocarbures pétroliers lors de pollutions impliquent principalement quatre types de produits aux comportements très différents (Tableau A.1).

Tableau A.1. Tableau récapitulatif des propriétés des hydrocarbures (CEDRE 2009)

Nature de l'hydrocarbure	Persistance/Évaporation
Produits raffinés légers essence	Persistance très faible voire nulle, Évaporation rapide (en quelques heures) Dispersion naturelle dans le milieu aquatique
Produits raffinés moyens gazole, kérosène, fioul domestique	Persistance faible Évaporation forte (autour de 40% en 24 heures) Dispersion naturelle dans le milieu aquatique
Produits raffinés lourds Fiouls lourds et résidus opérationnels	Persistance moyenne Évaporation faible (généralement inférieure à 10%)
Résidus Bruts paraffiniques dont le point d'écoulement est supérieur à la température de l'eau.	Persistance forte Hydrocarbures solides ou liquides et très visqueux Évaporation très faible

2.1.4 Toxicité des hydrocarbures

Tous les hydrocarbures ne sont pas toxiques. Les hydrocarbures aliphatiques et les naphthènes ont un comportement toxique mais avec un effet moindre que les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) (Bocard 2006). Ces composés sont cancérigènes et sont considérés par la Directive Cadre sur l'Eau comme « des substances dangereuses prioritaires ». Lors de pollutions en eaux continentales, seuls les composés HAP sont susceptibles d'interagir avec l'eau dans l'environnement en raison de leur solubilité, contrairement aux composés aliphatiques et aux naphthènes qui sont insolubles.

2.2 BIO-CARBURANTS

Dès 2003, la directive européenne 2003/30/CE stipulait aux Etats membres de l'Union européenne de fixer des objectifs nationaux d'incorporation de biocarburants dans les carburants conventionnels.

En 2009, la directive « Energies renouvelables (EnR) », 2009/28/CE, issue du "Climate–Energy Package" prend le relais en fixant un objectif de 20% d'incorporation d'énergie renouvelable dans la consommation d'énergie de l'UE, d'ici 2020, dont 10% dans les transports.

Ces objectifs répondent à la fois à des préoccupations, pour diversifier les approvisionnements énergétiques, mais également pour réduire les émissions de gaz à effet de serre des carburants, selon la méthodologie décrite par la directive DIR 2009/30/CE (concernant la qualité des carburants). D'ailleurs, cette seconde directive définit un certain nombre de critères pour attribuer une éco-certification aux biocarburants.

L'incorporation d'énergie renouvelable dans les carburants fossiles passe par la production de composés oxygénés issus de la biomasse : des alcools (éthanol, méthanol ou butanol) ou des esters (huiles végétales, esters méthylique ou éthylique d'huile végétale). Depuis quelques années, le gazole commercial comporte 5 à 7 % d'esters d'huile végétale. Les essences commerciales comportent 5% d'éthanol (SP98) utiles pour ajuster l'indice d'octane. Des formulations d'essences à plus hautes teneurs en oxygénés (SP95-E10 et E85) sont également disponibles commercialement. En tant que carburant de première génération, l'éthanol est obtenu par fermentation du sucre (saccharose) contenu dans la betterave ou dans la canne à sucre, ou par hydrolyse de l'amidon suivi de la fermentation du glucose. L'éthanol est également un biocarburant de deuxième génération produit à partir de la biomasse lignocellulosique. A terme, ce sont les carburants de deuxième génération qui prendront le relais car produits selon des procédés propres à partir d'une matière première disponible et ne rentrant pas en compétition avec l'alimentaire. Le BTL (biomass-to-liquid) est un autre carburant de seconde génération, préparé par voie thermochimique (gazéification) et composé d'un mélange d'hydrocarbures adaptés aux moteurs diesel.

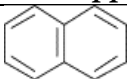
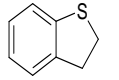
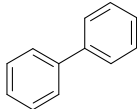
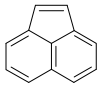
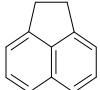
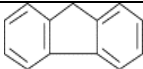
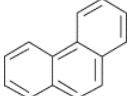
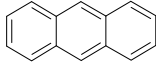
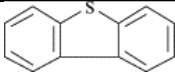
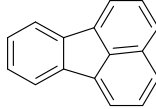
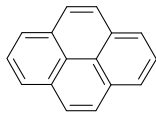
Il apparaît donc important de prendre en considération l'évolution future des carburants. C'est pourquoi, notre travail intègre la spécificité des biocarburants en comparant les carburants E85 et SP95-E10 à des carburants classiques. En effet, ces biocarburants, sous la forme d'éthanol ou de bases hydrocarbonées, vont progressivement se développer sur le marché, et peuvent se retrouver en contact avec le milieu naturel.

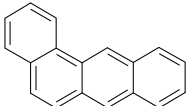
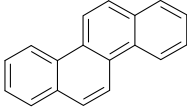
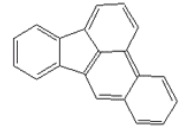
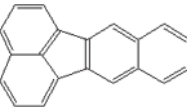
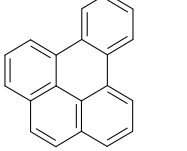
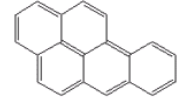
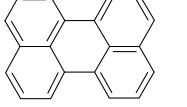
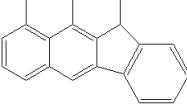
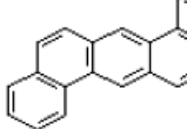
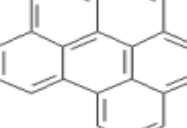
3 HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES

3.1 STRUCTURE DES HAP

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont une famille de molécules constituées uniquement de carbone et d'hydrogène dont la structure comprend au moins 2 cycles aromatiques fusionnés, chacun composé de 5 ou 6 atomes de carbone, et pouvant être substitués. Le HAP le plus simple, composé de deux cycles aromatiques fusionnés, est le naphthalène. Dans l'environnement, les HAP composés de 2 à 7 noyaux aromatiques sont les plus présents et les plus mobiles (Neff 1979). La formule des principaux composés étudiés est représentée dans le Tableau A.2. Des composés aromatiques polycycliques contenant des hétéroatomes (soufre, azote, oxygène) tels que le benzo(b)thiophène et le dibenzothiophène sont également présents en quantités importantes dans l'environnement (Olivier 2004).

Tableau A.2. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) non substitués classiquement étudiés

HAP	Formule brute	Formule développée	Abréviation	Masse molaire (g/mol)
Naphtalène	$C_{10}H_8$		N	128
Benzo(b)thiophène	C_8H_6S		BT	134
Biphényl	$C_{12}H_{10}$		B	154
Acénaphtylène	$C_{12}H_8$		ANY	152
Acénaphtène	$C_{12}H_{10}$		ANA	154
Fluorène	$C_{13}H_{10}$		F	166
Phénanthrène	$C_{14}H_{10}$		P	178
Anthracène	$C_{14}H_{10}$		A	178
Dibenzothiophène	$C_{12}H_8S$		D	184
Fluoranthène	$C_{16}H_{10}$		FL	202
Pyrène	$C_{16}H_{10}$		PY	202

Benzo[a]anthracène	$C_{18}H_{12}$		BA	223
Chrysène	$C_{18}H_{12}$		C	228
Benzo(b)fluoranthène	$C_{20}H_{12}$		BBF	252
Benzo(k)fluoranthène	$C_{20}H_{12}$		BKF	252
Benzo(e)pyrène	$C_{20}H_{12}$		BEP	252
Benzo(a)pyrène	$C_{20}H_{12}$		BAP	252
Pérylène	$C_{20}H_{12}$		PE	252
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	$C_{22}H_{12}$		IN	276
Dibenzo(a,h)anthracène	$C_{22}H_{14}$		DBA	278
Benzo(g,h,i)perylène	$C_{21}H_{16}$		BPE	276

3.2 ORIGINE DES HAP

Il est établi que la majeure partie des HAP est d'origine pyrolytique (McElroy et Sisson 1989). Ils proviennent de la combustion incomplète de la matière organique à haute température. Cette origine peut être naturelle (feux de forêts, éruptions volcaniques) ou anthropique (activité industrielle, production d'aluminium, d'énergie, cokeries), automobile, incinération des déchets, chauffage domestique). La fumée de cigarette ainsi que certains procédés de préparation et de cuisson des aliments (fumage, grillade, chauffage de l'huile de cuisine) constituent également une source pyrolytique non négligeable d'exposition de l'homme aux HAP.

Les HAP peuvent également être d'origine pétrogénique, issus de la maturation lente (plusieurs millions d'années) de la matière organique dans le milieu sédimentaire profond (plusieurs milliers de mètres de profondeur à des températures de 100 à 150°C et des pressions de 300 à 1500 bars). Ces mécanismes produisent des mélanges complexes appelés pétroles dont la part massique des composés aromatiques atteint 20 à 45%, les HAP (HAP alkylés et soufrés compris) représentant environ 65% des aromatiques. Ces composés sont ainsi introduits dans le milieu marin soit lors de déversements pétroliers dus à l'activité humaine (naufrages, dégazages, activité des plates-formes pétrolières), soit par des fuites de réservoirs naturels à travers l'écorce terrestre (Olivier 2004).

3.3 PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES HAP

Les propriétés physico-chimiques des HAP dépendent de leurs structures et de leurs masses moléculaires et conditionnent leur devenir et leur distribution dans l'environnement. Selon leur nombre de cycles benzéniques, ces composés sont communément classés en HAP "légers" (≤ 3 cycles) et HAP "lourds" (≥ 4 cycles). Leurs propriétés sont résumées dans le Tableau A.3. En général, les HAP sont considérés comme des molécules apolaires. Leur caractère hydrophobe augmente avec le nombre de cycles aromatiques, alors que leur solubilité diminue.

Les HAP susceptibles d'être présents dans le milieu aquatique ont entre deux et dix noyaux aromatiques. Au-delà, leur solubilité est trop faible pour qu'ils soient détectés dans les environnements aqueux. Les faibles pressions de vapeur des HAP leur confèrent une faible volatilité qui diminue avec le poids moléculaire, à l'exception du naphthalène, qui peut se volatiliser de la surface de l'eau ou du sol (Doornaert et al. 2006).

3.4 SYSTEMES AQUATIQUES ET HAP

Les niveaux de contamination par les HAP dans les systèmes aquatiques sont très variés d'un milieu à un autre, que ce soit à une échelle régionale ou à l'échelle mondiale. Le Tableau A.4 présente quelques-unes des données obtenues lors des différentes études à travers le monde pour divers types d'eau : eau de surface, eau de mer, eau de pluie et eau potable. La gamme de concentrations mesurées varie de quelques ng.L^{-1} à la dizaine de $\mu\text{g.L}^{-1}$ et cette variabilité est liée à la répartition spatiale des activités anthropiques et des sources naturelles, ainsi qu'aux fluctuations temporelles de celles-ci (Abir 2011).

Tableau A.3. Les principales caractéristiques des 16 HAP classés prioritaires par l'US-EPA

	Densité (g/cm ³)	Solubilité dans l'eau (mg/L) à 25°C (Saison 2001)	Coefficient de partage octanol-eau (log Kow à 25°C) (Saison 2001)	Coefficient de partage octanol-carbone organique (log Koc) (-)	Constante de Henry air/eau Atm.m ³ /mol 10 ⁻⁶ (Olivier 2004)	Coefficient de partage eau/air (Log Kea) (-) (Olivier 2004)	Pression de vapeur saturante (Pa à 25°C) (Saison 2001)
Naphtalène	1,162	32,0	3,36	3,15	483 - 490	1,7	7,20
Acénaphthylène	1,194	3,9	4,08	1,4			1,52
Acénaphthène	1,024	3,4	4,32	3,66	145		1,52
Fluorène	1,203	1,9	4,18	6,2	91		0,71
Phénanthrène	1,172	1,1	4,46	4,15	39,3	2,8	0,11
Anthracène	1,240	6,0 10 ⁻³	4,45	4,15	49,7		0,05
Fluoranthène	1,236	2,6 10 ⁻¹	5,53	5,58	11,6 - 16,1	3,5	1,19.10 ⁻³
Pyrène	1,271	1,4 10 ⁻¹	5,30	4,58	5	3,7	8,86.10 ⁻³
Benzo(a)anthracène	1,174	1,0 10 ⁻²	5,60	5,3			-
Chrysène	1,274	2,0 10 ⁻³	5,60	5,3			-
Benzo(b)fluoranthène	-	1,5 10 ⁻³	6,60	5,74	12	3,3	2,95 10 ⁻⁵
Benzo(k)fluoranthène	-	8,1 10 ⁻⁴	6,84	5,74	0,68		1,10 10 ⁻⁵
Benzo(a)pyrène	1,282	3,8 10 ⁻³	6,00	6,74	0,4	4,2	2,13 10 ⁻⁵
Dibenzo(a,h)anthracène	1,252	6,0 10 ⁻⁴	6,00	6,52	0,047 - 0,05	5,6	-
Benzo(g,h,i)pérylène	-	2,6 10 ⁻⁴	7,00	6,2			2,25 10 ⁻⁵
Indéo(1,2,3 cd)pyrène	-	2,6 10 ⁻⁴	7,70	6,2	0,29		1,00 10 ⁻¹⁰

Tableau A.4. Contamination en HAP dans l'eau de divers environnements aquatiques

Type d'eau	Régions	HAP dissous (ng.L ⁻¹)	Référence
Eau de mer	Mer Méditerranée (Ouest)	0,4 – 0,89	(Dachs et al. 1997)
	Mer Méditerranée (Sud), côte égyptienne	16 - 120	(El Nemr and Abd-Allah 2003)
	Mer Méditerranée, Barcelone	1,8	
	Mer Méditerranée, Grèce	113 - 459	(Valavanidis et al. 2008)
	Mer Egée (Nord)	1,6 - 33	
	Mer Baltique	< 0,4	(Olivella 2006)
	Mer Noire	< 0,5	(Maldonado et al. 1999)
	Chine, port de Macao	700	(Luo et al. 2004)
Eau de pluie	France, Strasbourg	121,3 – 1981,3	(Delhomme et al. 2007)
	France, Erstein	103,7 – 2771,6	
	Chine (Sud), Guangzho	617 - 34488	(Huang et al. 2009)
Potable	Pologne	38 - 9815	(Kabzinski et al. 2002)
Eau de surface	Pologne, Lac Sulejów	22 - 13832	(Kabzinski et al. 2002)
	Italie, Lac Majeur		(Olivella 2006)
	France, rivière Seine	4 - 26	(Fernandes et al. 1997)
	USA, rivière Mississipi	7 - 70	(Mitra and Bianchi 2003)
	USA, Lac Supérieur	5,8	(Olivella 2006)

3.5 TOXICITE DES HAP ET REGLEMENTATION

Actuellement, les effets toxicologiques de tous les HAP sont imparfaitement connus. Toutefois, les données expérimentales disponibles chez l'animal ont montré que certains HAP pouvaient induire spécifiquement de nombreux effets sur la santé, des effets systémiques (hépatiques, hématologiques, immunologiques et développement d'athéroscléroses), et/ou des effets sur la reproduction ainsi que des effets génotoxiques et cancérogènes (Doornaert et Pichard 2005).

Le texte de la Directive Cadre Européenne sur l'eau (DCE), qui concerne toutes les eaux (eaux de surface continentales, eaux souterraines et eaux littorales), vise la préservation ou l'amélioration de la qualité des eaux dans un but de protection des écosystèmes aquatiques et d'utilisation durable de l'eau (Directive n°2000/60/CE, Union Européenne). Les objectifs sont la réduction des rejets de substances prioritaires présentant un risque significatif pour l'environnement aquatique et la suppression des rejets de substances dangereuses prioritaires toxiques, persistantes et bioaccumulables.

La liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau a été choisie pour comprendre un total de 41 substances de différents groupes chimiques à prendre en compte dont les HAP font partie. La liste des HAP correspond à 8 substances : benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, benzo[a]pyrène, benzo[g,h,i]pyrène et Indéo(1,2,3 cd)pyrène, plus le Naphthalène, l'anthracène et le fluoranthène.

La directive fixe un objectif de qualité à atteindre pour 2015 : le bon état chimique et écologique des masses d'eau. L'état chimique sera évalué par rapport à des valeurs-seuils, les normes de qualité environnementale (« Environmental Quality Standards » en anglais EQS), fixées pour

chaque substance prioritaire. Les EQS sont construites à partir de l'évaluation du risque que la substance concernée fait courir à l'environnement ou à la santé humaine. Ces valeurs doivent permettre d'assurer un bon état des eaux de surface en intégrant la notion des toxicités aiguë et chronique des contaminants. Deux types de EQS sont distingués : moyenne annuelle (« annual average » AA-EQS) et concentration maximale acceptable (« Maximum Allowable Concentration » MAC-EQS). Les EQS pour les eaux de surface sont détaillées dans le Tableau A.5.

Tableau A.5. Moyenne annuelle (AA) et concentration maximale acceptable (MAC) des normes de qualité environnementale (EQS) pour les HAP dans les eaux de surface (Directive n°2013/39/UE, Union Européenne).

Composé	AA-EQS ($\mu\text{g.L}^{-1}$)		MAC- EQS ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
	eaux de surface intérieures	Autres eaux	eaux de surface intérieures	Autres eaux
Naphtalène	2,0	2,0	130,0	130,0
Anthracène	0,1	0,1	0,1	0,1
Fluoranthène	0,0063	0,0063	0,12	0,12
Benzo[a]pyrène	$1,7 \times 10^{-4}$	$1,7 \times 10^{-4}$	0,27	0,027

Concernant le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène, l'indéno(1,2,3-cd)pyrène et le benzo(g,h,i)pérylène, l'AA-EQS et le MAC-EQS sont identiques à celles appliquées pour le benzo(a)pyrène puisque dans la nouvelle Directive 2013/39/UE, le benzo(a)pyrène est considéré comme un marqueur de ces HAP et seule cette molécule doit dorénavant faire l'objet d'une surveillance.

4 ANALYSES DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES DANS LES EAUX

La mise en évidence d'une contamination par les HAP nécessite des techniques analytiques pointues. La multiplicité des sources fait que les HAP sont présents dans l'air, dans l'eau et dans les sols. Leur concentration est généralement très faible et varie fortement dans le temps et dans l'espace. La mise en évidence d'une contamination de l'environnement par les HAP nécessite souvent la mise en œuvre de techniques analytiques performantes. En raison de leur faible solubilité dans l'eau, les HAP présents dans l'environnement sont souvent associés à des particules fines en suspension.

4.1 EXTRACTION

4.1.1 Extraction liquide-liquide

La première méthode rapportée dans la littérature pour extraire les contaminants organiques de l'eau est l'**extraction** par solvant organique, dite « **liquide-liquide** » (ELL) (Manoli et Samara, 1996). Elle consiste à mélanger l'échantillon d'eau à un solvant organique pour lequel les HAP ont une affinité plus importante. L'extraction des HAP vers le solvant organique est généralement très efficace pour les contaminants hydrophobes et est très robuste. Cette technique présente cependant de nombreuses limites : très consommatrice de solvant et de temps de manipulation, nombre limité d'échantillons par série, technique non automatisée.

4.1.2 Extraction sur phase solide

L'**extraction sur phase solide** (SPE) correspond à une extraction et une concentration des HAP par percolation d'une centaine de millilitres à quelques litres d'échantillon d'eau sur une phase solide (silice greffée ou polymère ; environ 1 cm³). Les HAP sont ensuite élués par un solvant organique constituant un extrait organique analysable par les techniques chromatographiques. L'extraction est généralement effectuée « hors ligne » du système chromatographique d'analyse (Erger et al. 2012).

4.1.3 Micro-extraction sur phase solide

La **micro-extraction sur phase solide** (SPME) consiste en une immersion d'une fibre recouverte de phase (liquide ou poreux ; volume de phase d'environ 0,5 µL) dans moins de 10 mL d'échantillon, puis extraction sous agitation et chauffage des HAP qui migrent préférentiellement vers la phase. La fibre est ensuite introduite dans l'injecteur du système chromatographique où les HAP sont désorbés thermiquement de la fibre puis analysés. L'extraction est généralement réalisée en ligne du système chromatographique (Langenfeld et al. 1996).

4.2 ANALYSE

Plusieurs méthodes couplées sont couramment utilisées pour l'analyse quantitative et qualitative des HAP. On peut distinguer les méthodes basées sur la séparation des HAP en phase liquide et la séparation des HAP en phase gazeuse.

4.2.1 Méthodes basées sur la séparation en phase liquide

L'étape de séparation des HAP est généralement effectuée en utilisant la **chromatographie liquide en phase inversée** : la phase stationnaire est de nature apolaire (silice greffée) et la phase mobile est constituée par un solvant polaire. Il existe un grand nombre de colonnes spécialement conçues pour les HAP (Wise et al. 1993).

Les détecteurs les plus souvent utilisés pour l'analyse des HAP sont le **détecteur à fluorescence** (Gundel et al. 1996), le **détecteur UV-Visible** et le **détecteur UV à barrette de diode** (Menichini et al. 1999). Les détecteurs UV-Visible sont les détecteurs les plus employés en chromatographie liquide en raison de leur caractère universel, de la relative transparence dans l'UV de nombreux solvants et de la simplicité de la méthode. Toutefois, pour l'analyse de HAP présents à l'état de traces, l'utilisation de ce détecteur peut être réduite par ses limites de détection médiocres (Chiu et al. 1997). Le détecteur UV à barrette de diode fournit en plus le spectre d'absorption de chaque composé. Toutefois, les limites de détection atteintes par ce type de détecteur restent du même ordre de grandeur que le détecteur UV. Le détecteur fluorimétrique (FLD) présente deux avantages majeurs par rapport aux autres détecteurs : (1) une meilleure sélectivité car seuls 15% environ des composés fluorescent naturellement et (2) une meilleure limite de détection, qui peut être 10 à 100 fois inférieure à celle d'un détecteur UV (Miège et al. 1998). Cependant, cette technique de détection présente une spécificité limitée en comparaison avec un spectromètre de masse et est sensible à de nombreux paramètres comme le pH de l'échantillon, la température et la présence d'oxygène dans la phase mobile.

Parmi les méthodes plus récemment développées, la chromatographie liquide couplée à un **spectromètre de masse** (LC-MS) paraît intéressante pour l'identification et la quantification des HAP, et de ses dérivés polaires (HAP nitrés et oxygénés). Cette méthode combine les avantages de la séparation par chromatographie liquide (permettant l'analyse des composés non volatils et thermolabiles) et ceux de la détection par spectrométrie de masse (identification absolue des composés). La source à pression atmosphérique fonctionnant en ionisation chimique (APCI) semble la plus adaptée pour l'analyse des HAP, en terme d'optimisation de la limite de détection et de la linéarité de la réponse (Marvin et al. 1999 ; Titato and Lanças 2006).

La chromatographie liquide couplée à un **spectromètre de masse en tandem** (LC-MS-MS) est une technique encore peu répandue, mais représente un outil très prometteur pour l'identification de composés organiques de masse molaire élevée dans une matrice environnementale très complexe (Williams and Burinsky 2001). Les applications pour l'analyse des HAP sont toutefois encore très limitées, en raison de leur coût d'achat et de fonctionnement.

4.2.2 Méthodes basées sur la séparation en phase gazeuse

La **chromatographie en phase gazeuse** est une méthode de séparation de composés gazeux susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans dégradation. Les colonnes chromatographiques utilisées sont des colonnes capillaires avec une phase stationnaire composée de copolymère de phényl-méthylpolysiloxane dont les proportions en phényl varient et permettent généralement d'améliorer la séparation des HAP.

Le détecteur à spectrométrie de masse (SM) et le détecteur à ionisation de flamme (FID) sont les détecteurs couramment utilisés pour l'analyse des HAP. Le **détecteur à ionisation de flamme** est un détecteur universel très utilisé pour les composés organiques (Peltonen and Kuljukka 1995). Toutefois sa sensibilité est parfois insuffisante pour l'analyse de composés traces, tels que les HAP. Le **détecteur à spectrométrie de masse** est également très utilisé pour l'étude des HAP inclus dans une matrice environnementale. Cette technique améliore l'identification des molécules, par fragmentation de ces dernières et identification des ions fragment formés. L'ensemble de ces ions fragments constitue un spectre de masse caractéristique de certaines structures moléculaires. Pour les HAP, l'ion moléculaire (M^+) est généralement le plus abondant. L'identification est effectuée en comparant le spectre obtenu avec ceux d'une bibliothèque de spectres. Il existe différents types de spectromètres de masse : quadripôles, pièges à ions, temps de vol. Le spectromètre le plus utilisé est le quadripôle, en raison de son coût modeste et de ses bonnes performances. Le spectromètre à piège d'ions est plus performant en termes de sensibilité mais est délicat d'entretien. En raison de la stabilité des HAP, l'analyse de ces molécules par spectrométrie de masse utilise le plus souvent l'ionisation par impact électronique (bombardement d'électrons, 70 eV). Deux modes d'acquisition complémentaires permettent une identification et une quantification précise des échantillons :

- Le mode qualitatif (mode FULL SCAN : une gamme de masses est balayée tout au long de l'analyse) permet l'identification des composés présents dans l'échantillon par comparaison avec les spectres de masse disponibles dans les banques de données ;
- Le mode quantitatif (mode SIM « Single Ion Monitoring » : un ou quelques ions caractéristiques des composés recherchés sont sélectionnés) permet d'améliorer grandement la sélectivité et la limite de détection, en abaissant le bruit de fond.

La chromatographie gazeuse couplée à la **spectrométrie de masse en tandem** (GC-MS-MS) est également une technique de choix pour l'analyse des HAP. Le dispositif permet de sélectionner dans un premier analyseur, un ou quelques ions caractéristiques de l'espèce étudiée, incluant généralement l'ion moléculaire. Ces ions sont ensuite fragmentés par collision avec des molécules de gaz (argon, azote) dans une chambre de collision. Les fragments obtenus, appelés « ions fils » sont alors introduits dans un deuxième analyseur, qui détecte leur masse afin de constituer le spectre MS2. Comparé à la GC-MS simple, le couplage de la GC avec la spectrométrie de masse en tandem améliore la sélectivité et la sensibilité de l'analyse. En effet, seules les molécules conduisant à la formation d'ions fils sont détectées, ce qui conduit à une forte diminution du bruit de fond. Ainsi, le rapport signal/bruit, et donc la sensibilité, augmente avec la GC-MS-MS. L'utilisation des spectromètres de masse en tandem a été longtemps limitée en raison de la complexité du dispositif nécessaire et de son coût. Cette méthode est devenue plus abordable avec l'apparition des pièges d'ions, qui permettent d'obtenir les spectres MS et MS_n (Wang et al.

1996). L'intérêt de cette méthode pour l'analyse des HAP est qu'elle permet de distinguer les différents isomères (Pyle et al. 1997). La principale limite est le coût plus élevé du matériel et la complexité de la mise au point de la méthode d'analyse. De plus, contrairement au couplage GC-MS, il n'y a pas de bibliothèque de spectres disponible sur le marché, ce qui peut être une difficulté lorsque les composés étudiés ne sont pas disponibles dans le commerce.

4.3 STIR BAR SORPTIVE EXTRACTION (SBSE)

La Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) est une technique développée ces dernières années (Baltussen et al. 1998). Elle a trouvé d'importantes applications dans le domaine de l'environnement, notamment pour l'extraction des HAP dans l'eau (David and Sandra 2007).

4.3.1 Principe de la SBSE

Cette technique est fondée sur la différence d'affinité des composés que l'on souhaite extraire pour la phase d'extraction et son milieu d'origine. Classiquement, le milieu d'origine est une phase aqueuse, et la phase d'extraction est du PolyDiMéthylSiloxane (PDMS), formant une fine couche (0,5-1mm) à la surface d'une enveloppe de verre contenant un barreau aimanté. Lors de l'agitation du barreau SBSE (Twister®), les composés qui ont peu d'affinité pour l'eau sont concentrés au sein de la phase PDMS. Les molécules ciblées par cette technique sont dites apolaires, notion exprimée par le coefficient de partage octanol/eau, ou K_{ow} , qui est alors généralement supérieur ou égal à 1000 (ce qui correspond à un $\log K_{ow} \geq 3$). Une corrélation entre le coefficient de partage octanol-eau et le coefficient de partage entre la phase PDMS et la phase aqueuse a été établie (Baltussen et al., 1999). Cette technique permet une bonne reproductibilité des expériences (coefficient de variation inférieur à 15%, Kolahgar et al. 2002), avec des limites de détection pour les HAP de l'ordre du nanogramme par litre.

Le barreau SBSE (Twister®) est présenté sur Figure A.7.

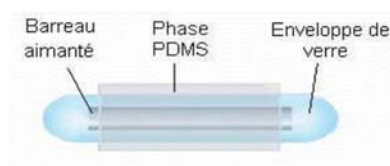


Figure A.7. Barreau d'analyse SBSE (également appelé TWISTER), recouvert d'une phase de PDMS (PolyDiméthylSiloxane)

La technique d'équilibre est basée sur le partage des solutés entre les phases, et défini par le $\log K_{ow}$ selon la formule à l'équilibre (1) (David and Sandra 2007) :

$$K_{PDMS / W} \approx K_{OW} = \frac{C_{PDMS}}{C_W} = \left(\frac{M_{PDMS}}{M_W} \right) \left(\frac{V_W}{V_{PDMS}} \right) = \beta \left(\frac{M_{PDMS}}{M_W} \right) \quad (1)$$

Où C_{PDMS} est la concentration des analytes dans le PDMS, C_W est la concentration des analytes dans l'eau, M_{PDMS} et M_W respectivement la masse des analytes dans le PDMS et dans l'eau, V_W est le volume d'eau et V_{PDMS} est le volume PDMS utilisé, et avec le rapport de phase $\beta = V_W/V_{PDMS}$.

Le couvrement R , qui est défini par le rapport de la quantité extraite de soluté (M_{PDMS}) sur la quantité initiale de soluté présent dans l'eau ($M_0 = M_w + M_{PDMS}$), est donc dépendant du coefficient de distribution K_{PDMS}/w et du rapport de phase β , comme l'indique l'équation (2) (David and Sandra 2007) :

$$R = \frac{M_{PDMS}}{M_{O/W}} = \frac{\frac{K_{PDMS}}{\beta}}{1 + \frac{K_{PDMS}}{\beta}} \quad (2)$$

Cette équation montre que l'efficacité de l'extraction augmente avec coefficient K_{PDMS}/w et donc avec K_{ow} (Figure A.8).

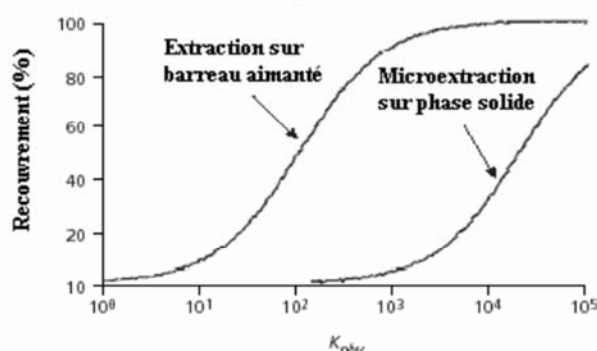


Figure A.8. Recouvrement des solutés en fonction du coefficient de partage K_{ow} en SPME (échantillon de 10mL, fibre de PDMS de 100 μ m) et en SBSE (échantillon de 10mL, barreau aimanté de PDMS de 10mm x 0.5mm) (CEDRE 2009)

4.3.2 SBSE pour l'analyse des HAP

La technique SBSE montre une bonne reproductibilité ($CV < 15\%$) d'extraction, notamment pour les HAP (David and Sandra 2007). Une étude a été menée au cours de laquelle neuf mesures par condition ont été réalisées (Kolahgar et al. 2002). A une concentration de 10 ng.L⁻¹, la reproductibilité des mesures est comprise entre 5 et 15 %, tandis qu'à une concentration de 50 ng.L⁻¹, elle est comprise entre 3 et 9 %. D'une manière générale, la technique SBSE est reconnue comme une technique robuste, ayant une bonne répétabilité et permettant une récupération élevée des analytes (Leon et al. 2003). Le Tableau A.6 présente différentes études analytiques réalisées à partir de la SBSE sur la famille des HAP.

Tableau A.6. SBSE pour l'analyse de HAP (d'après Sanchez-Rojas et al. 2009)

Type de l'eau	Méthode	Conditions optimisées			Limite de détection (LOD) (ng.L ⁻¹)	Référence
		Echantillon	Temps d'extraction (min)	Vitesse (rpm)		
Eau	GC-MS	10 mL d'échantillon d'eau dans flacon sertie de 20 mL à température ambiante.	-	500	1,0	(Kolahgar et al. 2002)
Eau	GC-MS	10 mL d'échantillon d'eau dopé dans flacon en verre.	60	1000	0,05 – 1,0 et 0,3 – 2,0	(Popp et al. 2003)
Eau de pluie	LC-FLD	10 mL d'échantillon.	140	1000	0,2 - 1,5	(Boudat-Deschamps et al. 2007)
Eau de ruissellement	LC-FLD	40 mL d'échantillon dans flacon ambré + 1 ml d'acétonitrile à 60 °C.	40	-	0,5 – 7,3	(Garcia-Falcón. et al. 2004)
Eau	GC-MS	10 mL d'échantillon + 100 mg de carbonate de sodium et 20 µL d'anhydride acétique.	360	1000	0,3 - 25	(Itoh et al. 2005)
Eau de mer	GC-MS	200 mL d'échantillon dans un flacon ambré fermé de 200 mL (afin de réduire le volume de l'espace libre et éviter toute photosensibilisation) à température ambiante.	60	900	Large gamme de LOD en fonction du composé	(Roy et al. 2005)
Eau	GC-MS	100 mL d'échantillon avec 20% de NaCl à température ambiante.	840	900	0,1 - 36	(Leon et al. 2003)
Eau de mer et Eau industrielle	GC-MS	100 mL d'échantillon + NaCl dans flacon correspondant.	840	900	<1	(Pérez-Carrera et al. 2007)

Eau	GC-MS	20 mL d'échantillon + chlorure de sodium plus (30%) + méthanol (20%)	-	-	0,1 - 10	(Prieto et al. 2007)
Eau	LC-FLD	10 mL d'échantillon d'eau dans flacon de 10 mL en verre.	60	1000	0,2 - 2	(Popp et al. 2001)
Eau	LC-FLD	10 mL d'eau dans un flacon de 10 mL en verre.	60	850	0,4 – 5,0	(Niehus et al. 2002)
Eau de rivière	LC-FLD	100 mL d'échantillon + 10 mL de méthanol placé dans un flacon de 125 mL.	180	800	0,6 – 6,0	(Ishii et al. 2006)
Eau d'estuaire et Eau de mer	GC-MS	100 mL d'échantillon + 5, 10 et 20 g de NaCl, à 21 °C.	720	800	5	(Huertas et al. 2007)

5 CONCLUSION

Le risque de pollution accidentelle du milieu aquatique par des hydrocarbures est un sujet de grande polémique. L'environnement marin n'est pas le seul touché par les problèmes de marées noires. Les événements de pollution en eaux continentales impliquant des hydrocarbures représentent de l'ordre de 50% des événements. Afin de préserver cette ressource, il est nécessaire de mettre en place des systèmes d'alerte alimentés par des modèles comportementaux des substances dissoutes en rivière. Il s'agit de compléter les manques de l'état de l'art à l'aide de moyens d'investigations spécifiques en laboratoire pour les caractérisations physico-chimiques des hydrocarbures et de la modélisation des dérives de nappes.

Cette étude bibliographique révèle que peu d'études se sont intéressées à la caractérisation des déversements d'hydrocarbures dans les eaux, notamment à la fraction soluble. Dans ce contexte et dans le cadre de cette thèse, des essais cinétiques avec le suivi des différentes fractions ont été réalisées à l'échelle laboratoire sur des eaux ultra-pures. Les HAP ont été analysés de façon à caractériser l'évolution des produits de type hydrocarbures dans la colonne d'eau. **La partie B de ce manuscrit est consacrée à la caractérisation des hydrocarbures (Partie B Chapitre 1) et à l'étude de leur comportement à l'échelle de la colonne d'eau (Partie B Chapitre 2 et 3).**

De plus, les effets spécifiques des caractéristiques physico-chimiques des eaux continentales sur les dérives de nappes d'hydrocarbures sont en partie méconnues : influence de la variation de la salinité, influence de la température, influence des sédiments avec la présence de bouchons vaseux en estuaire pouvant induire des concentrations en matières en suspension de plus de 1 g/L en surface. Dans les faits, très peu d'études expérimentales ont été faites concernant l'évolution des produits de type hydrocarbures dans un cours d'eau et ses interactions avec les conditions environnementales. Ainsi, **la partie C de ce manuscrit est consacrée à l'étude des conditions (Partie C Chapitre 1) et à l'étude des eaux réelles (Partie C Chapitre 2). En outre, l'impact de la pollution en hydrocarbures sur la microflore naturelle et l'évaluation du comportement de micro-organismes sont abordés dans la Partie C Chapitre 3.**

Ce travail de thèse répond aux principales problématiques suivantes :

- Quelles sont les caractéristiques des hydrocarbures ? Quel est le niveau de pollution de la fraction soluble au cours du temps ? Quel sont les phénomènes physico-chimiques mis en jeu lors d'un déversement d'hydrocarbure à l'échelle de la colonne d'eau ? (Partie B)
- Comment les conditions environnementales du milieu récepteur influencent le comportement des hydrocarbures dans les eaux ? Quel est le niveau de biodégradabilité des hydrocarbures dans l'eau ? Quelle est l'influence d'un déversement d'hydrocarbures sur la microflore naturelle ? (Partie C)

6 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abir, K. (2011). "Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des HAP et de pesticides dans l'eau. Application à l'évaluation de la qualité des eaux Libannaises". Chimie Analytique et Environnement. Bordeaux, Bordeaux I. **Doctorat.**
- Arnaud, P. (1983). "Cours de Chimie Organique." Tome 1.
- Baltussen E., David F., et al. (1998). "Retention model for sorptive extraction–thermal desorption of aqueous samples: application to the automated analysis of pesticides and polyaromatic hydrocarbons in water samples." *Journal of Chromatography A* 805 (1-2): 237-247.
- Baltussen E., Sandra P. et al. (1999). "Study into the equilibrium mechanism between water and poly(dimethylsiloxane) for very apolar solutes: adsorption or sorption ? *Analytical Chemistry* 71 (22): 5213-5216
- Bertrand J.C. and Mille G. (1989). "Devenir de la matière organique exogène. Un modèle : les hydrocarbures" (Bianchi M, Marty D, Bertrand JC, Caumette P and Gautier M, eds). Masson Paris.
- Bocard, C. (2006). "Marées noires et sols pollués par des hydrocarbures. Enjeux environnementaux et traitement des pollutions" IFP Publications.
- Bonnemains, J., Bossard C., et al. (2011). "Atlas des marées noires dans les eaux intérieures du 1er janvier 2008 au 31 décembre 2010", Technical report, Association des Robins des Bois.
- Boudat-Deschamps M., Daudin J.J., et al. (2007). "An experimental design approach to optimise the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from rainfall water using stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection." *Journal of Chromatography A* 1167 (2): 143-153.
- CEDRE, (2009). "Quantification de composés organiques dissous par Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) couplée à une analyse GC/MS". *Recherche & Développement News* 09-01: 1-7.
- CEDRE. (2012). Gouriou V. "Analyse réglementaire de l'alerte et de la gestion des crises liées aux déversements accidentels d'hydrocarbures dans les eaux continentales et estuariennes en Europe". Technical Report
- Chiu C.P., Lin Y.S., et al. (1997). "Comparison of GC-MS and HPLC for overcoming matrix interferences in the analysis of PAHs in smoked food. ." *Chromatographia* 44 (9-10): 497-504.
- Dachs J., Bayona J.M., et al. (1997). "Spatial, Vertical Distribution and Budget of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Western Mediterranean Seawater." *Environmental Science and Technology* 31 (3): 682-688.
- David F. and Sandra P. (2007). "Stir bar sorptive extraction for trace analysis." *Journal of Chromatography A* 1152 (1-2): 54-69.
- Delhomme O., Rieb E., et al. (2007). "Solid-phase extraction and LC with fluorescence detection for analysis of PAHs in rainwater." *Chromatographia* 65 (3-4): 163-171.
- "Directive n°2000/60/CE du parlement européen et du conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau."
- Directive n°2013/39/UE du parlement européen et du conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau."

- Doornaert, B. and Pichard A.(2005). "Analyse et proposition de méthodes d'évaluation de la relation dose-réponse des effets cancérigènes induits par un mélange d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques." *Environnement Risques Santé* 4(3).
- Doornaert B., Pichard A., et al. (2006). Hydrocarbures Aromatiques polycycliques (HAPs). Évaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes : Approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique - FET) et approche par mélanges. NERIS-DRC-03-47026-ETSC.
- El Nemr A. and Abd-Allah A.M.A. (2003). "Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in microlayer and subsurface waters along Alexandria coast, Egypt." *Chemosphere* 52(10): 1711-1716.
- Erger C., Balsaa P. et al. (2012). "Multi-component trace analysis of organic xenobiotics in surface water containing suspended particulate matter by solid phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1249: 181-189
- Fernandes M.B., Sicre M.A., et al. (1997). "Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary." *Marine Pollution Bulletin* 34(11): 857-867.
- Garcia-Falcón M.S., Perez-Lamela C., et al. (2004). "Strategies for the extraction of free and bound polycyclic aromatic hydrocarbons in run-off waters rich in organic matter." *Analytica Chimica Acta* 508 (2): 117-183.
- Gomez, D. (2010). "Etude approfondie de l'influence de la nature chimique fine des polluants hydrocarbures sur le calcul du risque sanitaire." Technical report, AXE environnement., Ecole de Hautes Etudes En Santé Publique: 74.
- Gundel, J., Mannschreck C., et al. (1996). "Urinary levels of 1-hydroxypyrene, 1-, 2-, 3-, and 4-hydroxyphenanthrene in females living in an industrial area of Germany." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31: 585-590.
- Huang D., Peng P.A., et al. (2009). "Distribution and deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation in Guangzhou, South China." *Journal of Environmental Sciences* 21 (5): 654-660.
- Huertas C., Morillo J., et al. (2007). "Validation of stir bar sorptive extraction for the determination of 24 priority substances from the European Water Framework Directive in estuarine and sea water." *Talanta* 72 (3): 1149-1156.
- Ishii Y., Kawaguchi M., et al. (2006). "Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in river water by HPLC after stir bar sorptive extraction." *Bunseki Kagaku* 55: 949-954.
- Itoh N., Tao H., et al. (2005). "Optimization of aqueous acetylation for determination of hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons in water by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry." *Analytica Chimica Acta* 535 (1-2): 243-250.
- Kabzinski A.K.M., Cyran J., et al. (2002). "Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water (including drinking water) of Łódź." *Polish journal of environmental studies* 11(6): 695-706.
- Kolahgar B., Hoffmann A., et al. (2002). "Application of stir bar sorptive extraction to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples." *Journal of Chromatography A* 963 (1-2): 225-230.
- Langenfeld J. J., Hawthorne S. B., et al. (1996). "Quantitative analysis of fuel-related hydrocarbons in surface water and wastewater samples by solid-phase microextraction." *Analytical Chemistry* 68(1): 144-155.
- Leon V.M., Alvarez B., et al. (2003). "Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry - I. Method optimisation." *Journal of Chromatography A* 999: 91-101.
- Luo X., Mai B., et al. (2004). "Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides in water columns from the Pearl River and the Macao harbor in the Pearl River Delta in South China." *Marine Pollution Bulletin* 48(11-12): 1102-1115.

- Maldonado C., Bayona J. M., et al. (1999). "Sources, distribution, and water column processes of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Northwestern Black Sea Water." *Environmental Science & Technology* 33(16): 1693-1702.
- Manoli E. and Samara C., (1996). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in waste waters and sewage sludge: Extraction and clean-up for HPLC analysis with fluorescence detection." *Chromatographia* 43 (3/4): 135-142
- Marvin C.H., Smith R.W., et al. (1999). "Analysis of high molecular mass polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental sample using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry." *Journal of Chromatography A*. 863(1): 13-24.
- McElroy A.E. and Sisson J.D. (1989). "Trophic transfer of benzo[a]pyrene metabolites between benthic marine organisms." *Marine Environmental Research* 28(1-4): 265-269.
- Menichini E., Monfredi F., et al. (1999). "The temporal variability of the profile of carcinogenic PAH's in urban air: a study in a medium traffic area in Rome 1993-1998." *Atmospheric Environment* 33(23): 3739-3750.
- Miège C., Dugay J., et al. (1998). "Optimization and validation of solvent and supercritical-fluid extractions for the trace-determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection." *Journal of Chromatography A* 823(1-2): 219-230.
- Mitra S. and Bianchi T.S. (2003). "A preliminary assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon distributions in the lower Mississippi River and Gulf of Mexico." *Marine Chemistry* 82(3-4): 273-288.
- Neff, J. M. (1979). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment : sources, fates and biological effects." Applied Sciences Publishers.
- Niehus B., Popp P., et al. (2002). "Comparison of stir bar sorptive extraction and solid phase extraction as enrichment techniques in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sample " *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 82(10): 669-676.
- Olivella M.A. (2006). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and surface waters of Lake Maggiore, a subalpine lake in Northern Italy." *Chemosphere* 63(1): 116-131.
- Olivier, M. (2004). "Evaluation de l'exposition des organismes aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans le milieu marin par le dosage des métabolites de HAP." Bordeaux, Bordeaux I. Doctorat: 456.
- Peltonen K. and Kuljuka T. (1995). "Air sampling and analysis of PAHs." *Journal of Chromatography A*. 710(1): 93-108.
- Pérez-Carrera E., Leon V.M.L., et al. (2007). "Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1170 (1-2): 82-90.
- Popp P., Bauer C., et al. (2003). "Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds from water: A comparison between solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction." *Journal of Separation Science* 26 (9-10): 961-967.
- Popp P., Bauer C., et al. (2001). "Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples." *Analytica Chimica Acta* 436(1): 1-9.
- Prieto A., Zuloaga O., et al. (2007). "Development of a stir bar sorptive extraction and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry method for the simultaneous determination of several persistent organic pollutants in water samples." *Journal of Chromatography A* 1174(1-2): 40-49.

- Pyle S.M., Betowski L.D., et al. (1997). "Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons by ion trap tandem mass spectrometry." *Journal of American Society for Mass Spectrometry* 8(2): 183-190.
- Roy G., Vuillemin R., et al. (2005). "On-site determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in seawater by stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC-MS." *Talanta* 66(3): 540-546.
- Saison, C. (2001). Dissipation des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sols à pollution multiple. Nancy, ENSAIA-INPL/INRA UMR 1120, INPL. Doctorat.
- Sanchez-Rojas F., Bosch-Ojeda C., et al. (2009). "A review of stir bar sorptive extraction." *Chromatographia* 69(1 supplement): 79-93.
- Titato G.M. and Lanças F.M. (2006) "Optimization and validation of HPLC-UV-DAD and HPLC-APCI-MS methodologies for the determination of selected PAHs in water samples." *Journal of Chromatographic Science* 44(1): 35-40
- Valavanidis A., Vlachogianni T., et al. (2008). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface seawater and in indigenous mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from coastal areas of the Saronikos Gulf (Greece) Estuarine." *Estuarine Coastal and Shelf Science* 79(4): 733-739.
- Wang M., Schachterle S., et al. (1996). "Application of Nonresonance Excitation to Ion Trap Tandem Mass Spectrometry and Selected Ejection Chemical Ionization." *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 7(7): 668-676.
- Williams J.D. and Burinsky D.J. (2001). "Mass spectrometric analysis of complex mixtures then and now: the impact of linking liquid chromatography and mass spectrometry." *International Journal of Mass Spectrometry* 212(1-3): 111-133.
- Wise, S.A., Sander L.C., et al. (1993). "Review: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography." *Journal of Chromatography A* 642(1-2): 329-349.

7 LISTE DES FIGURES

Figure A.1. Evolution pluriannuelle du nombre de déversements recensés en eaux continentales et estuariennes (quantité > 7 tonnes, tous produits confondus) dans la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)	9
Figure A.2. Quantités (tonnes) déversées par catégories de polluants, suite aux accidents significatifs identifiés en eaux continentales et estuariennes (ampleur > 7 tonnes et suffisamment renseignés) en Europe au cours de la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)	10
Figure A.3. Fréquence (%), par type d'hydrocarbures, des événements de déversements accidentels significatifs (ampleur > 7 tonnes, suffisamment renseignés) ayant entraîné une pollution d'eaux continentales ou estuariennes en Europe, pour la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)	10
Figure A.4. Fréquence (%), par type de cause, (a) des événements de déversements accidentels significatifs (ampleur > 7 tonnes, suffisamment renseignés) et (b) des quantités d'hydrocarbures déversées en eaux continentales ou estuariennes en Europe, pour la période 2005-2009 (CEDRE, 2012)	11
Figure A.5. Ensemble des hydrocarbures présents dans les pétroles bruts (d'après Bertrand and Mille 1989)	13
Figure A.6. Coupes pétrolières lors de la distillation	14
Figure A.7. Barreau d'analyse SBSE (également appelé TWISTER), recouvert d'une phase de PDMS (PolyDiméthylSiloxane)	25
Figure A.8. Recouvrement des solutés en fonction du coefficient de partage Kow en SPME (échantillon de 10mL, fibre de PDMS de 100µm) et en SBSE (échantillon de 10mL, barreau aimanté de PDMS de 10mm x 0.5mm) (CEDRE 2009)	26

8 LISTE DES TABLEAUX

Tableau A.1. Tableau récapitulatif des propriétés des hydrocarbures (CEDRE 2009).....	14
Tableau A.2. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) non substitués classiquement étudiés	16
Tableau A.3. Les principales caractéristiques des 16 HAP classés prioritaires par l'US-EPA	19
Tableau A.4. Contamination en HAP dans l'eau de divers environnements aquatiques.....	20
Tableau A.5. Moyenne annuelle (AA) et concentration maximale acceptable (MAC) des normes de qualité environnementale (EQS) pour les HAP dans les eaux de surface (Directive n°2013/39/UE, Union Européenne).....	21
Tableau A.6. SBSE pour l'analyse de HAP (d'après Sanchez-Rojas et al. 2009)	27

PARTIE B.

CARACTERISATION DES HYDROCARBURES ET ETUDE DU COMPORTEMENT

SOMMAIRE DE LA PARTIE B

CARACTERISATION DES HYDROCARBURES ET ETUDE DU COMPORTEMENT	37
1 CHAPITRE I. CARACTERISATION DES HYDROCARBURES BRUTS.....	41
1.1 Matériel et méthodes	41
1.1.1 Choix des hydrocarbures.....	41
1.1.2 Densités et viscosités	41
1.1.3 Courbes de distillation	42
1.1.4 Teneurs en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).....	42
1.2 Résultats et discussions.....	43
1.2.1 Densités et viscosités	43
1.2.2 Courbes de distillation	44
1.2.3 Concentrations en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	45
2 CHAPITRE II. CINETIQUES DE TRANSFERT DES HYDROCARBURES DANS L'EAU	48
2.1 Matériel et méthodes	48
2.1.1 Conditions expérimentales.....	48
2.1.2 Protocole analytique.....	49
2.1.2.1 Composés analysés	50
2.1.2.2 Protocole d'extraction	50
2.1.2.2.1 Préparation des étalons d'extraction.....	50
2.1.2.2.2 Préparation des solutions de calibration	51
2.1.2.2.3 Mise en œuvre de l'extraction.....	51
2.1.2.3 Protocole d'analyse	51
2.1.2.4 Traitements des résultats.....	53
2.2 Résultats et discussions.....	54
2.2.1 Essais statiques à l'échelle du laboratoire.....	54
2.2.1.1 Comportement des hydrocarbures.....	54
2.2.1.2 Répartition temporelle des HAP.....	55
2.2.1.3 Influence de la teneur en éthanol des composés oxygénés.....	59
2.2.2 Essais dynamiques à l'échelle du polludrome	63
2.2.2.1 Protocole expérimental	63
2.2.2.2 Résultats.....	65

2.2.2.2.1	Cinétiques de dissolution pour un dépôt de 10mL	66
2.2.2.2.2	Influence de l'échelle : Comparaison des essais laboratoire et polludrome..	67
2.2.2.2.3	Influence du rapport hydrocarbure/eau à l'échelle polludrome	67
2.2.2.2.4	Influence de la salinité	68
3	CHAPITRE III. REPARTITION DES HAP SELON LES DIFFERENTES PHASES (DISSOUTE, SURNAGEANTE ET EVAPOREE) ET TENSION SUPERFICIELLE	70
3.1	Matériels et méthodes	70
3.1.1	Expérimentation.....	70
3.1.1.1	Protocole à l'échelle laboratoire.....	70
3.1.1.1.1	Béchers de 3 L	70
3.1.1.1.2	Contenants de 7200 L.....	70
3.1.1.2	Protocole à l'échelle du polludrome.....	71
3.1.2	Analyse des HAP.....	72
3.1.2.1	HAP dans l'eau (fraction soluble) : SBSE-TD-GC-MS	72
3.1.2.2	HAP dans les carburants (fraction initiale et dans la nappe) : GC-MS	72
3.1.3	Mesure de la tension superficielle	73
3.1.3.1	Préparation des milieux.....	74
3.1.3.2	Principe de la mesure.....	74
3.2	Résultats et interprétations	75
3.2.1	Répartition des HAP dans les différentes phases	75
3.2.1.1	Essais en laboratoire	75
3.2.1.1.1	Volatilisation	77
3.2.1.1.2	Dissolution dans l'eau et solubilité	78
3.2.1.1.3	Influence de l'éthanol	78
3.2.1.2	Influence de l'échelle pour le cas du gazole	78
3.2.2	Evolution de la tension superficielle.....	80
4	CHAPITRE IV. CONCLUSION	84
5	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	86
6	LISTE DES FIGURES.....	88
7	LISTE DES TABLEAUX	90

1 CHAPITRE I. CARACTERISATION DES HYDROCARBURES BRUTS

L'objectif des caractérisations des hydrocarbures au sens large (produits pétroliers) consiste à étudier leur comportement, principalement leur capacité à flotter, leur étalement sur la surface de l'eau, ainsi que le taux maximum d'évaporation prévisible suite à un déversement. Ces différents processus peuvent être estimés au travers de données physiques telles que la densité, la viscosité, éventuellement complétées par le point d'écoulement pour les hydrocarbures lourds (fioul lourd et bitume), ainsi que par les courbes de distillation. Par ailleurs, dans l'objectif d'étudier la solubilisation des composés aromatiques dans une colonne d'eau, il convient de déterminer leurs teneurs dans les hydrocarbures d'origine avant déversement.

1.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1.1 Choix des hydrocarbures

Huit hydrocarbures ont été fournis par Total (Tableau B.1) : bitume, fioul lourd, fioul domestique, kérosène, essence (SP98), essence (SP95-E10), essence (E85) et gazole. Ils ont été sélectionnés en raison de leur usage commun. Leur stockage a été réalisé à 4°C. Avant utilisation, les produits légers sont ramenés à température ambiante pendant 12h et les produits lourds sont utilisés après réchauffage à 70 °C pendant 1h.

Tableau B.1. Hydrocarbures étudiés

Produits raffinés légers	Produits raffinés lourds
Gazole	Fioul lourd (IFO 380)
Fioul domestique (FOD)	Bitume (Azalt 35/50)
Kérosène	
Essence (SP98)	
Essence (SP95-E10)	
Essence (E85)	

1.1.2 Densités et viscosités

La densité des hydrocarbures fournis est mesurée selon la norme (AFNOR, NF EN ISO 3838, 2008) "Pétrole brut et produits pétroliers liquides ou solides - Détermination de la masse volumique ou de la densité - Méthodes du pycnomètre à bouchon capillaire et du pycnomètre bicapillaire gradué", équivalente à l'ASTM D70 (2009) "Standard Test Method for Specific Gravity and Density of Semi-Solid Bituminous Materials (Pycnometer Method)".

La viscosité des produits pétroliers dans leur état initial est mesurée à 10, 15 et 20 °C. Celle des émulsions est mesurée à 15 °C, température de leur formation au laboratoire. Ces caractérisations ont été effectuées à l'aide d'un viscosimètre Haake VT 550 à différents gradients de vitesse (de 1 à 100 s⁻¹). Pour ce qui concerne le fioul lourd, des mesures complémentaires à 50°C ont permis

de vérifier sa conformité avec les spécifications commerciales. Le point d'écoulement est mesuré sur le fioul lourd dans son état initial selon la norme AFNOR équivalente à l'ASTM (AFNOR ISO 3016 1994) (ASTM D97 2009).

1.1.3 Courbes de distillation

Les échantillons sont évaporés à 250 °C afin d'établir le taux maximum d'évaporation (qui correspond au résidu à 250 °C) ainsi que la courbe de distillation complète du produit jusqu'à cette température. La distillation est effectuée selon le protocole développé par (Daling et al. 1997). Cette technique a été décrite par (Stiver and MacKay 1984) en tant que méthode dérivée de la norme (ASTM D86 2009) . L'objectif de ce protocole n'est pas d'accéder à la courbe complète de distillation d'une huile, comme pour la méthode ASTM, mais d'obtenir des résidus de distillation à une température donnée. Cependant, au cours de la distillation, des mesures sont effectuées afin de caractériser le fioul lourd par sa courbe de points d'ébullition vrais (True Boiling Point – TBP – curve).

Pour les produits raffinés légers, cette méthode gravimétrique n'est pas toujours adaptée, en particulier en raison d'une teneur en composés incondensables élevée. Aussi, la technique de distillation simulée par chromatographie en phase gazeuse (ASTM D3710 2009) pourra être utilisée sur un certain nombre de produits légers, essences notamment, mais également sur des produits plus lourds afin de disposer d'une base de données homogène. Cette technique permet de déterminer la température d'ébullition de chaque résidu en fonction du temps d'élution chromatographique et ainsi, en additionnant le courant ionique total, de tracer la courbe de distillation.

1.1.4 Teneurs en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les composés aromatiques polycycliques systématiquement analysés dans l'eau seront également quantifiés au sein des hydrocarbures dans leur état initial, c'est-à-dire avant déversement dans les divers outils expérimentaux. Les conditions d'analyse par GC/MS sont identiques à celles utilisées pour la technique SBSE (Partie B chapitre 2) à l'exception de la préparation puis de l'injection de l'échantillon décrites ci-dessous.

Pour les composés raffinés légers (essences, kérosène et gazole) aucune purification préalable n'est nécessaire. Après addition des étalons internes, environ 20mg de fioul lourd et de bitume sont purifiés sur colonne SPE (Solid Phase Extraction) de type cyanopropyle. Après passage des hydrocarbures, l'élution des composés d'intérêt est assurée par 10mL d'un mélange pentane/dichlorométhane 80/20 (v/v) qui sont ensuite réduits sous azote à environ 200 μ L pour analyse.

L'injection de 1 μ L de cet échantillon dans l'appareil GC/MS est effectuée en mode « pulsed splitless » à 300 °C.

1.2 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1.2.1 Densités et viscosités

Le Tableau B.2 présente les caractéristiques physico-chimiques des différents hydrocarbures étudiés. Une large gamme d'hydrocarbures est balayée avec des densités allant de 720kg.m^{-3} pour les essences à 1060kg.m^{-3} pour le fioul lourd.

Tableau B.2. Description des hydrocarbures étudiés et de leurs propriétés physico-chimiques principales

Hydrocarbures	Etat physique	Couleur	Densité (kg.m^{-3} à 15 °C)	Viscosité (mPas)
Bitume	Solide à 20 °C Liquide à 150 °C	Noir ou brun foncé	1000 – 1100	
Fioul lourd	Liquide visqueux à 20 °C	Brun vert / Brun foncé / Noir	1060	19500 à 10 °C 9100 à 15 °C 4500 à 20 °C 370 à 50 °C
Fioul domestique	Liquide à 20 °C	-	820 - 860	
Kérosène	Liquide	Sans couleur ou jaune très pale	775 - 840	
Essence SP98	Liquide à 20 °C	Jaune pale	720 - 775	
Essence SP95-E10	Liquide à 20 °C	Jaune pale	752	
Gazole	Liquide à 20 °C	Jaune	842	
Essence E85	Liquide à 20 °C	Jaune pale	784	

1.2.2 Courbes de distillation

Le volume de polluant demeurant à la surface de l'eau est contrôlé essentiellement par les phénomènes d'évaporation. La contribution de la dissolution à la diminution des quantités déversées est en comparaison marginale. Les courbes de distillation sont présentées sur la Figure B.1.

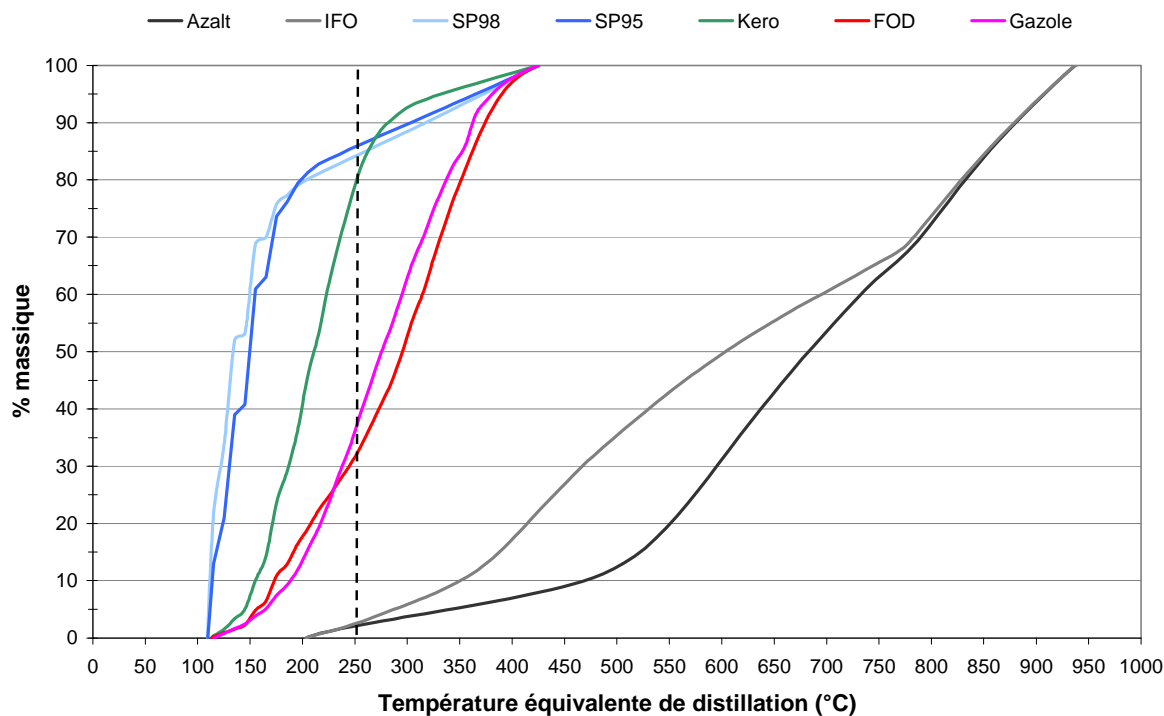


Figure B.1. Courbes de distillations des produits pétroliers testés

La valeur de 250 °C est mise en évidence dans la figure car il est généralement admis que l'évaporation maximale d'un produit correspond approximativement à la coupe distillant jusqu'à 250 °C. En tenant compte de cette estimation, les pourcentages maximaux d'évaporation ainsi obtenus à 250°C pour les différents produits sont présentés sur le Tableau B.3.

Tableau B.3. Taux d'évaporation maximale des produits pétroliers testés

Produit	Evaporation maximale (%)
SP95-E10	86
SP98	84
Kérosène	79
Gazole	36
Fioul domestique	32
Fioul lourd	3
Azalt 35/50	2

Les fractions distillées avant 250°C, permettent de classer les hydrocarbures en fonction de leur volatilité : les hydrocarbures lourds (fioul lourd, fioul domestique), un hydrocarbure de volatilité moyenne (gazole) et des hydrocarbures plus volatils (kérosène et essences SP98 et SP95-E10)

1.2.3 Concentrations en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Le transfert des HAP de la nappe d'hydrocarbures vers le milieu aquatique est influencé par de multiples paramètres environnementaux mais dépend avant tout de la teneur initiale de ces composés au sein des produits pétroliers testés. Aussi, afin de pouvoir, à terme, modéliser les échanges entre la nappe et les phases air et eau, il convient de déterminer les concentration en HAP transférées dans la colonne d'eau pour chaque produit raffiné considéré. Les valeurs de concentration présentées sur la Figure B.2 et la Figure B.3 correspondent à la somme des 41 molécules ciblées. Les résultats montrent que la teneur la plus importante est obtenue pour le fioul domestique (environ 35000 $\mu\text{g.g}^{-1}$) et se révèle élevée en comparaison du gazole, coupe pétrolière dont il se rapproche le plus en termes de volatilité. Le fioul lourd contient également une proportion importante de ces composés (environ 15000 $\mu\text{g.g}^{-1}$), principalement issus de la coupe de fluidifiant fortement aromatisée généralement utilisée pour atteindre les spécifications de viscosité. Le bitume est le produit contenant la concentration en HAP la plus faible (environ 600 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Il est à noter les teneurs peu élevées en HAP en été (autour de 4000 $\mu\text{g.g}^{-1}$) mesurées sur les trois essences (SP98, SP95-E10 et E85) : ces coupes pétrolières légères contiennent surtout des composés mono-aromatiques. Malgré la présence de 10% d'éthanol, l'essence SP95-E10 contient davantage de HAP que l'essence SP98.

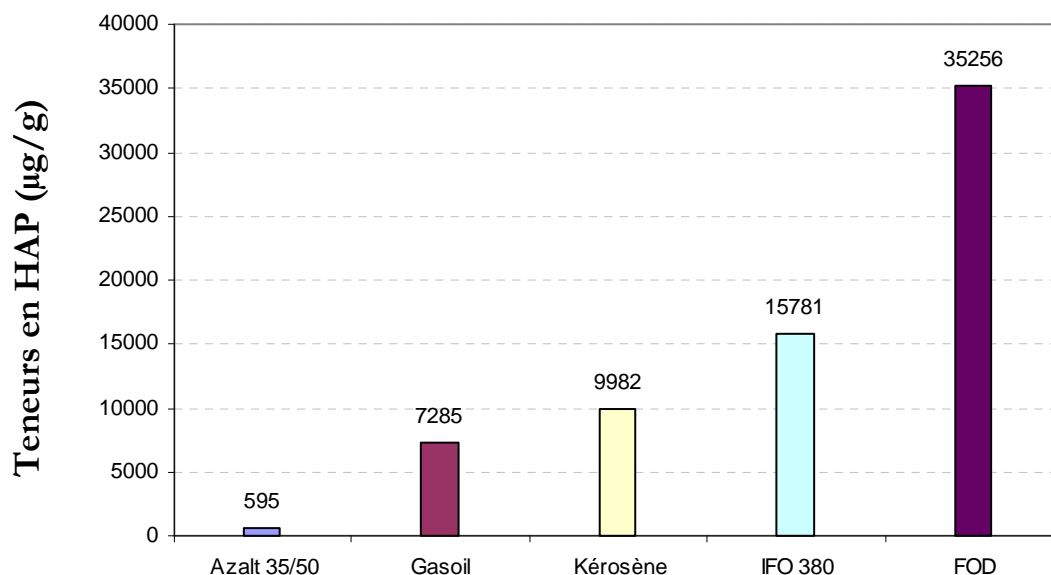


Figure B.2. Teneurs en HAP des produits pétroliers testés

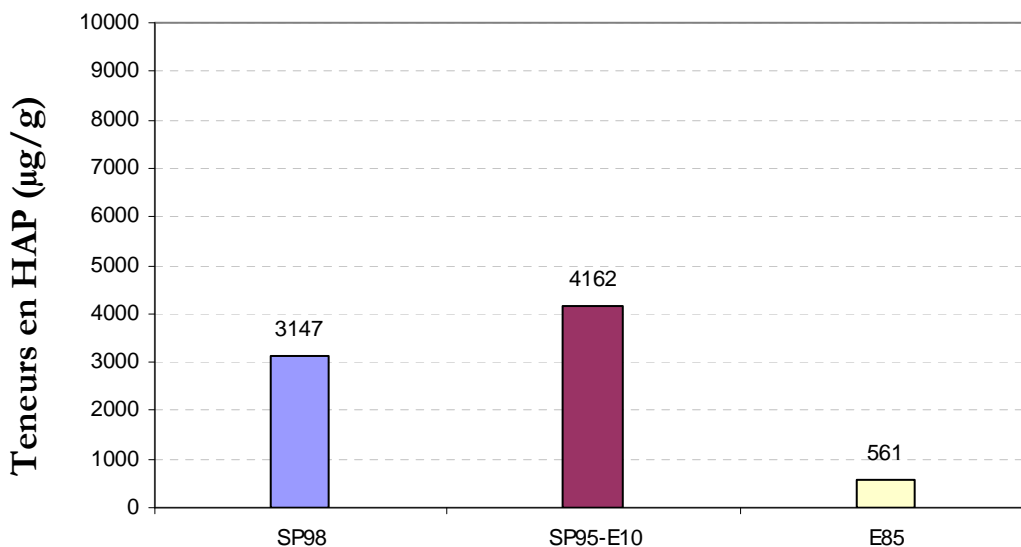


Figure B.3. Teneurs en HAP des produits oxygènes

Des HAP individuels ont également été analysés dans les produits bruts. Il s'agit du naphthalène qui représente les HAP légers comprenant 2 cycles aromatiques, du phénanthrène qui représente les HAP de poids moléculaire intermédiaire (3 cycles aromatiques), du chrysène qui représente les HAP lourds (5 cycles aromatiques) et du dibenzothiophène indicateur de la pollution soufrée. Ces HAP sont considérés comme un indicateur global de dissolution. Les résultats sont présentés sur la Figure B.4 et la Figure B.5. Pour chaque produit, excepté le fioul lourd on observe que la concentration en HAP totaux est guidée par les composés légers (naphthalènes).

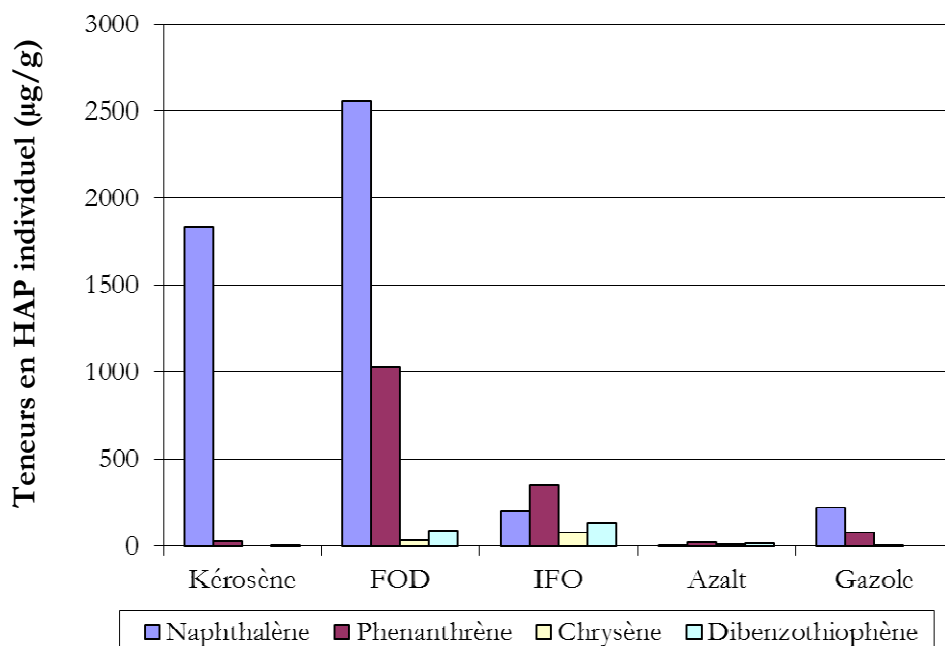


Figure B.4. Teneurs en HAP individuel exprimées en µg de HAP par g d'hydrocarbure brut.

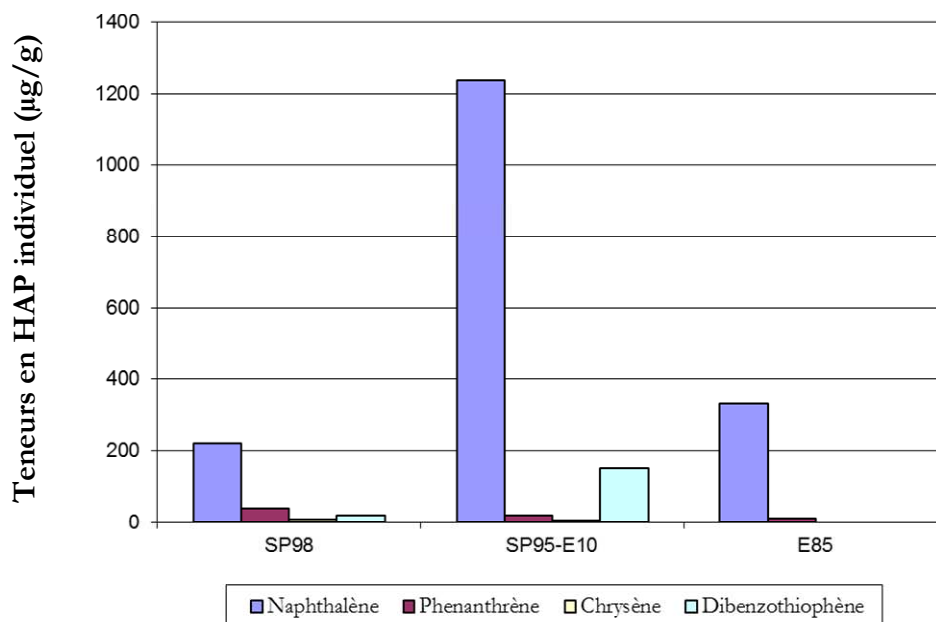


Figure B.5. Teneurs en HAP individuel exprimées en µg de HAP par g de produit oxygène brut

Les hydrocarbures étudiés, d'usage commun, ont été caractérisés en termes de densité, viscosité, taux d'évaporation maximale et teneurs en hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Le fioul domestique, le gazole et le fioul lourd sont les hydrocarbures les plus riches en HAP à l'état initial. Le Bitume est celui dont la concentration en HAP est la plus faible. Les trois essences (SP98, SP95-E10 et E85) contiennent surtout des composés mono-aromatiques et, malgré la présence de 10% d'éthanol, l'essence SP95-E10 contient davantage de HAP que l'essence SP98.

Enfin, pour chaque produit, excepté le fioul lourd, on observe que la concentration en HAP totaux est guidée par les composés légers (naphtalènes).

2 CHAPITRE II. CINÉTIQUES DE TRANSFERT DES HYDROCARBURES DANS L'EAU

L'objectif des essais cinétiques est de déterminer le moment où les teneurs en hydrocarbures dans l'eau sont maximales lors d'un déversement. C'est en effet le moment où l'on peut s'attendre à observer l'impact à court terme le plus significatif sur le milieu aquatique et bénéficier, au laboratoire, de quantités en HAP mesurables.

2.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1.1 Conditions expérimentales

La verrerie a été soigneusement nettoyée avec de l'eau Milli-Q, du méthanol et de l'acétone de qualité analytique. Le « milieu récepteur » utilisé lors des cinétiques est de l'eau « ultra-pure ». Les essais cinétiques sont réalisés à température ambiante, en relevant la température de l'air et de l'eau d'un bécher témoin. Le ratio de surface hydrocarbure/eau est de 10 %, ce qui correspond à l'ajout d'1 g d'hydrocarbure dans 1000 g d'eau dans les conditions choisies.

Pour la mise en contact des hydrocarbures avec l'eau, 1500 g d'eau « ultra-pure » sont placés dans un bécher de 3 L muni d'un barreau aimanté. Puis, 150 mg d'hydrocarbure sont introduits, avant de placer l'ensemble sous agitation lente sans vortex et à l'obscurité pendant 48 h. Le bécher est placé dans une enceinte thermorégulée pour maintenir une température constante de 20°C. Une cinétique est réalisée pendant deux jours pour chaque hydrocarbure. Les temps de prélèvements sont indiqués dans le Tableau B.4. Deux mesures sont réalisées pour chaque point d'une cinétique.

Tableau B.4. Temps de prélèvement des essais cinétiques

Hydrocarbure	Temps de mise en contact (h)										Température (°C)
	0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	
Bitume	0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	20
Fioul lourd	0.25	2	4	7	10	24	32	48			20
Fioul domestique	0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	20
Kérosène	0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	20
SP98	0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	20
SP95-E10	0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	20
Gazole	0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	20

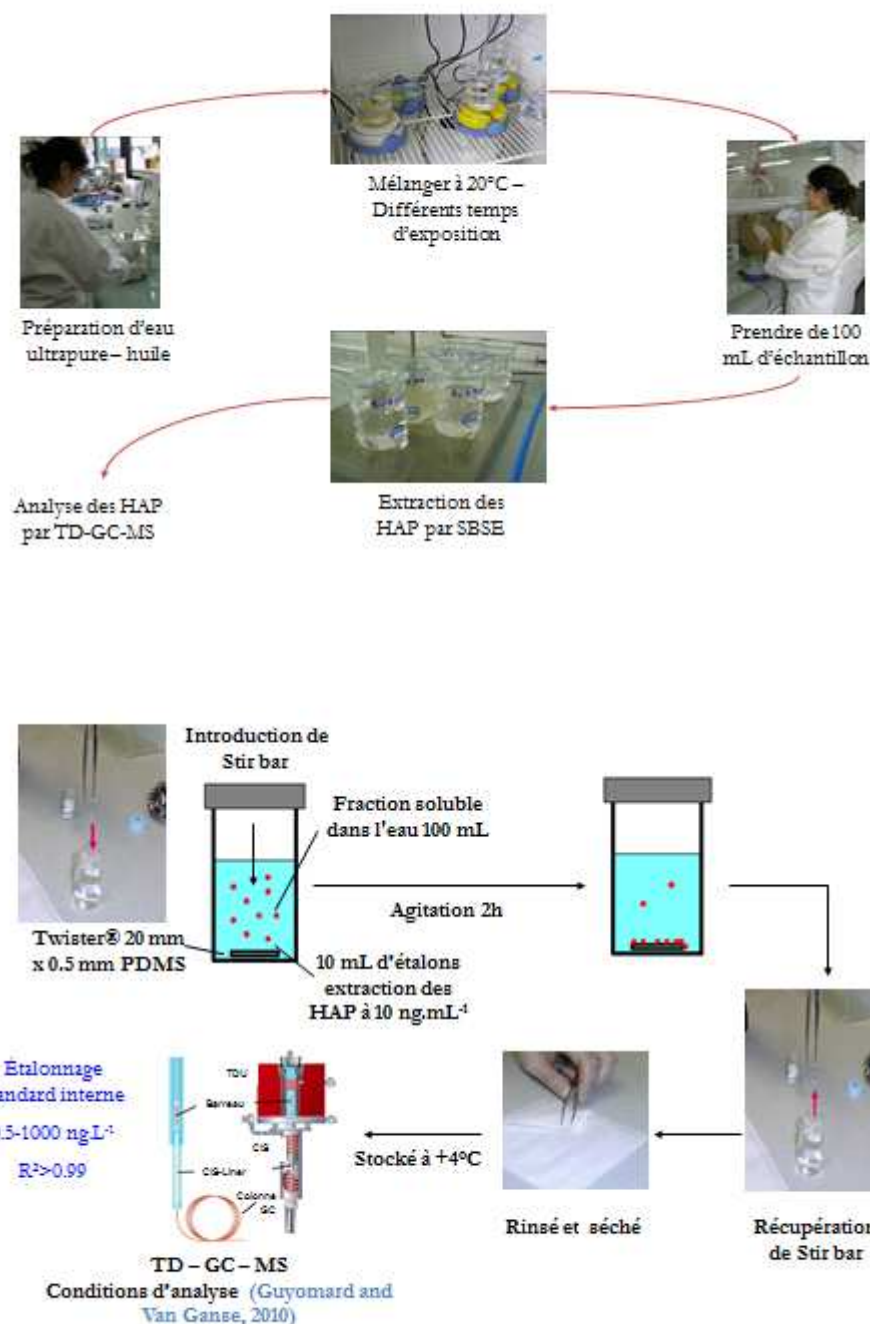


Figure B.6. Protocole expérimentale de SBSE

2.1.2 Protocole analytique

Le protocole analytique est illustré par la Figure B.6. Il utilise la technique d'extraction par SBSE. L'eau ultra-pure et le produit pétrolier sont agités à 20°C. 100 mL d'échantillon sont prélevés à chaque temps de contact pour réaliser l'extraction des HAP par SBSE et analysés par Thermodésorption-GC-MS.

2.1.2.1 Composés analysés

Il a été décidé d'analyser les 16 HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) prioritaires répertoriés par l'US EPA (United States Environmental Protection Agency), auxquels ont été ajoutés des dérivés soufrés et ramifiés. L'ensemble des composés étudiés ainsi que les composés deutérés utilisés comme étalons d'extraction sont présentés dans le Tableau B.5.

Tableau B.5. Liste des composés analysés

Naphtalène d8	Nd8	Dibenzothiophène	D
Naphtalène	N	C1-Dibenzothiophène	D1
C1-Naphtalène	N1	C2-Dibenzothiophène	D2
C2-Naphtalène	N2	C3-Dibenzothiophène	D3
C3-Naphtalène	N3	Fluoranthène	FL
Benzo(b)thiophène	BT	Pyrène	PY
C1-Benzo(b)thiophène	BT1	C1-Fluoranthène/Pyrene	FL1
C2-Benzo(b)thiophène	BT2	C2-Fluoranthène/Pyrene	FL2
C3-Benzo(b)thiophène	BT3	C3-Fluoranthène/Pyrene	FL3
Biphényle d10	Bd10	Chrysène d12	Cd12
Biphényle	B	Benzo(a)anthracène	BAA
Acénaphthylène	ANY	Chrysène	C
Acénaphthène	ANA	C1-Chrysène	C1
Fluorène	F	C2-Chrysène	C2
C1-Fluorène	F1	C3-Chrysène	C3
C2-Fluorène	F2	Benzo[a]pyrène d12	B[a]Pd12
C3-Fluorène	F3	Benzo[b]fluoranthène	BBF
Phénanthrène d10	Pd10	Benzo[k]fluoranthène	BKF
Phénanthrène	P	Benzo[e]pyrène	BEP
Anthracène	A	Benzo[a]pyrène	BAP
C1-Phénanthrène/Anthracène	P1	Pérylène	PE
C2-Phénanthrène/Anthracène	P2	Indeno(1,2,3-cd)pyrène	IN
C3-Phénanthrène/Anthracène	P3	Dibenz(a,h)anthracène	DBA
		Benzo(g,h,i)peryène	BPE

2.1.2.2 Protocole d'extraction

2.1.2.2.1 Préparation des étalons d'extraction

Une solution contenant 5 étalons d'extraction deutérés (naphtalène-d8, biphényle-d10, phénanthrène-d10, chrysène-d12, benzo[a]pyrène-d12) est préparée à partir d'une ampoule d'1 mL contenant chaque composé à la concentration d'1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dans l'acétone (LGC Standards).

Une dilution dans 1 L de méthanol permet d'obtenir une concentration de la solution mère d'1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Cette solution est conservée à 4 °C. 10 mL de cette solution mère seront ensuite ajoutés à 100 mL de la phase aqueuse de chaque essai avant extraction, menant ainsi à une concentration de 100 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$.

2.1.2.2.2 Préparation des solutions de calibration

Une solution contenant les 21 HAP parents (non ramifiés) est fournie en ampoule d'1 mL contenant chaque composé à une concentration d' $1\mu\text{g.mL}^{-1}$ dans un mélange acétonitrile/acétone (solution mère SM, CSM = 1mg.L^{-1} ; LGC Standards). Une solution fille est préparée en ajoutant $10\mu\text{L}$ de la solution mère à $990\mu\text{L}$ d'acétonitrile (solution fille SF, CSF = $10\mu\text{g.L}^{-1}$). Les solutions de calibration sont préparées par ajout de la solution mère et de la solution fille à 100mL d'eau ultrapure. Les volumes nécessaires sont présentés dans le Tableau B.6 .

Tableau B.6. Volumes nécessaires à la préparation des solutions de calibration

Concentration souhaitée (ng.L^{-1})	0,5	1	5	10	100	500	1000
Solution ajoutée	Solution fille à $10\mu\text{g.L}^{-1}$				Solution mère à 1mg.L^{-1}		
Volume ajouté (μL)	5	10	50	100	10	50	100

2.1.2.2.3 Mise en œuvre de l'extraction

A l'issue de la mise en contact entre le produit pétrolier et l'eau, 100mL de la partie soluble sont prélevés à la pipette jaugée 1 trait, puis déposés dans un bécher de 150mL. 10mL d'étalons d'extraction y sont ajoutés avant l'introduction du barreau Twister® (2 cm x 0,5 mm PDMS) à l'aide d'une pince. Le bécher est ensuite couvert avec un verre de montre et placé à l'abri de la lumière pendant 2h sous agitation forte (vortex). Suite aux deux heures d'agitation, le barreau Twister® est extrait avec une pince, rincé par un jet d'eau ultrapure à la pissette puis séché sur papier absorbant. Le barreau Twister® peut alors être conservé à 4 °C jusqu'à trois semaines avant désorption thermique.

2.1.2.3 Protocole d'analyse

Les analyses sont menées sur un système combinant un désorbeur thermique, un chromatographe en phase gazeuse et un spectromètre de masse.

Le système de désorption thermique est fourni par Gerstel. Il s'agit d'une unité de désorption thermique (TDU : Thermal Desorption Unit) couplée à un injecteur à programmation de température (CIS : Cooled Injection System). Le chargement des échantillons se fait à l'aide d'un passeur automatique Gerstel TDS-A. Les conditions de désorption thermique sont décrites dans le Tableau B.7.

Tableau B.7. Conditions de désorption thermique

Température initiale	Montée en température	Température finale	Tenue en température	Température de transfert	Mode
50°C	115°C/min	280°C	10min	300°C	Splitless

Les conditions de condensation et d'injection sont décrites dans le Tableau B.8.

Tableau B.8. Conditions de condensation et injection

Temp. initiale	Montée en temp.	Temp. intermédiaire	Tenue de la temp. intermédiaire	Montée en temp.	Temp. finale	Tenue de la temp. finale
-50°C	12°C/min	300°C	10min	0,5°C/min	310°C	1min

Le chromatographe en phase gazeuse est un appareil Agilent 7890. Il est équipé d'une colonne HP-5MS (5 % Phenyl Methyl Silox; 30 m x 250 µm x 0,25 µm). Les paramètres du four sont décrits dans le Tableau B.9.

Tableau B.9. Programmation de température

Temp. initiale	Montée en temp.	Temp. intermédiaire	Tenue de la temp. intermédiaire	Montée en temp.	Temp. finale	Tenue de la temp. finale	Durée du cycle
50 °C	1 min	5 °C/min	310 °C	2 °C/min	320 °C	10 min	68 min

Le spectromètre de masse est un appareil Agilent 5975, utilisé en impact électronique (énergie d'ionisation: 70 eV). Les conditions d'acquisition sont décrites dans le Tableau B.10.

Tableau B.10. Groupes SIM (Single Ion Monitoring)

Groupe SIM	Temps initial	Masse des ions sélectionnés
1		57, 128, 134, 136, 142, 148
2	18 min	57, 152, 154, 156, 162, 164, 166, 170, 176
3	25 min	57, 178, 180, 184, 188, 192, 194
4	29 min	57, 192, 194, 198, 202, 206, 208, 212, 216, 220, 226
5	37 min 30 s	57, 216, 228, 230, 240, 242, 244, 256
6	44 min	57, 252, 256, 264, 270, 276, 278

Les limites de quantification obtenues sont de l'ordre du nanogramme par litre.

2.1.2.4 Traitements des résultats

Les chromatogrammes sont analysés à l'aide du logiciel Agilent Technologies MSD Productivity ChemStation. Les données sont rapportées à la concentration des étalons d'extraction deutérés. Les composés ramifiés sont quantifiés selon la courbe de calibration du composé parent. Pour les composés ramifiés ayant pour composé parent le phénanthrène/anthracène ou le fluoranthène/pyrène, la quantification se fait par pondération suivant l'abondance respective des deux composés parents potentiels.

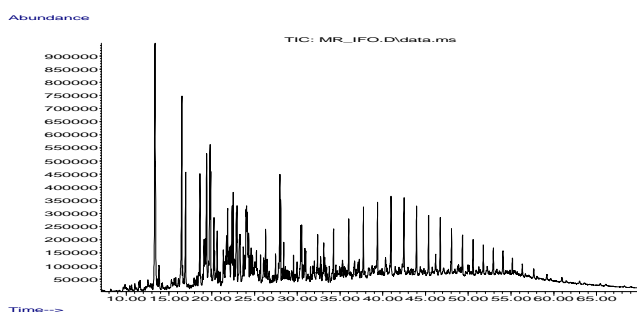
2.2 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

2.2.1 Essais statiques à l'échelle du laboratoire

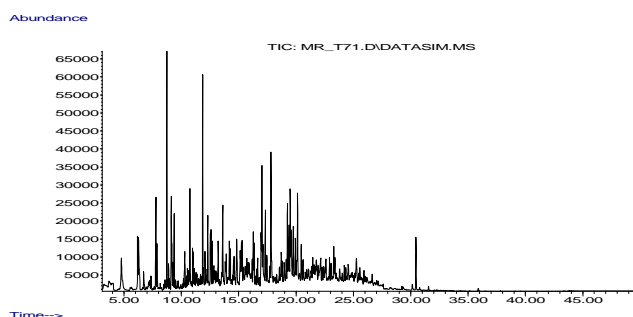
2.2.1.1 Comportement des hydrocarbures

Les profils chimiques des fractions solubles, illustrés par les chromatogrammes de la Figure B.7, montrent que les compositions des fractions solubles et des hydrocarbures bruts sont différentes et ce, en raison de la différence de solubilité des produits. De plus, après détermination des concentrations, nous observons que la teneur en HAP dans l'eau est d'autant plus grande que l'hydrocarbure de départ contient davantage de HAP. Cependant, seule une petite quantité de HAP est solubilisée.

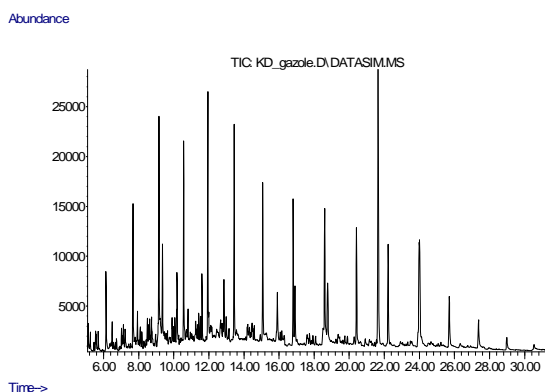
Chromatogramme du bitume brut



Chromatogramme de la fraction soluble après 24h



Chromatogramme du gazole brut



Chromatogramme de la fraction soluble après 24h

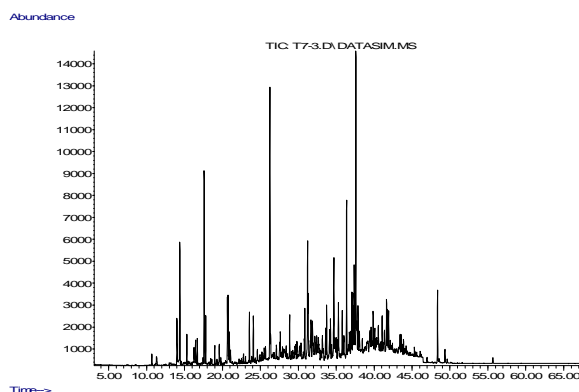


Figure B.7. Chromatogrammes (HRGC-MS analyses en SIM mode) du bitume brut et de la fraction soluble après 24h de mise en contact

2.2.1.2 Répartition temporelle des HAP

Les résultats sont présentés sur la base de (1) la somme des 41 HAP suivis (2) du naphthalène (2 cycles aromatiques), (3) du phénanthrène (3 cycles aromatiques), (4) du chrysène (5 cycles aromatiques) et (5) du dibenzothiophène. Les Figure B.8 à B.15 présentent la composition des fractions solubles en fonction du temps.

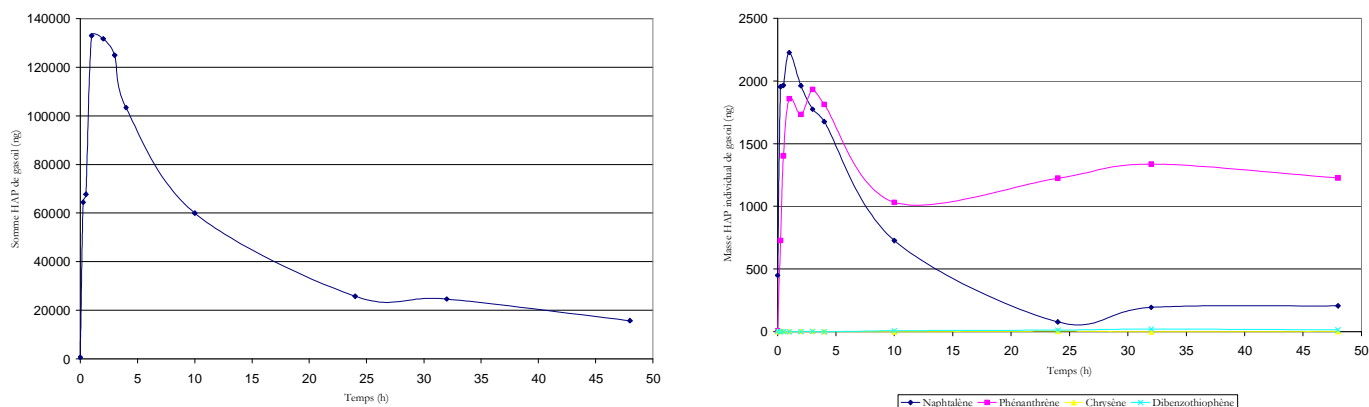


Figure B.8. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Gazole.

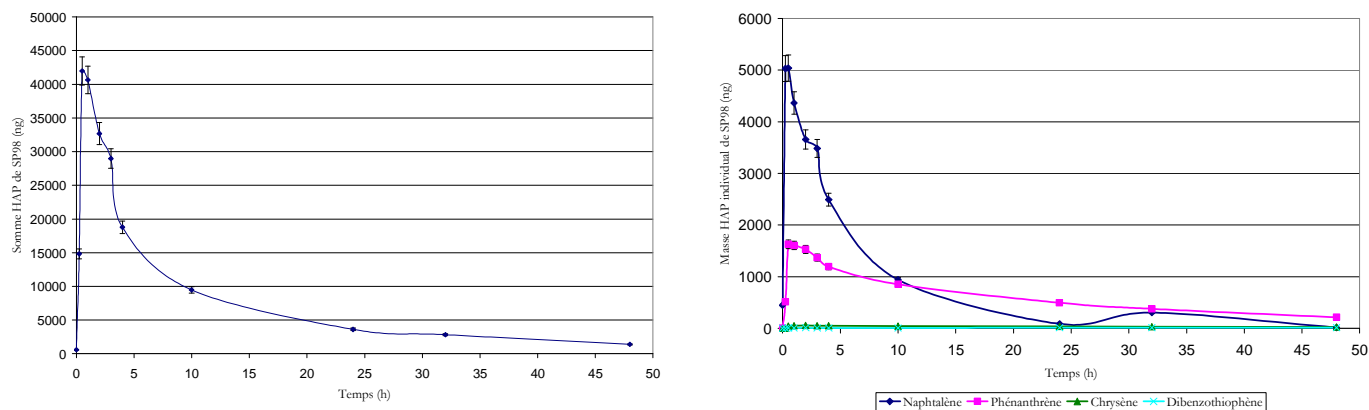


Figure B.9. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de SP98.

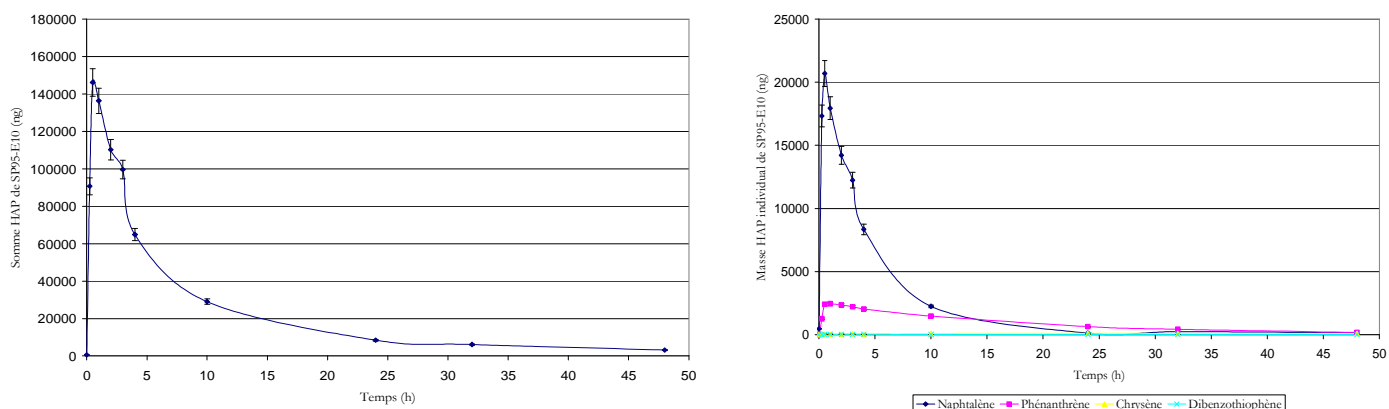


Figure B.10. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de SP95-E10.

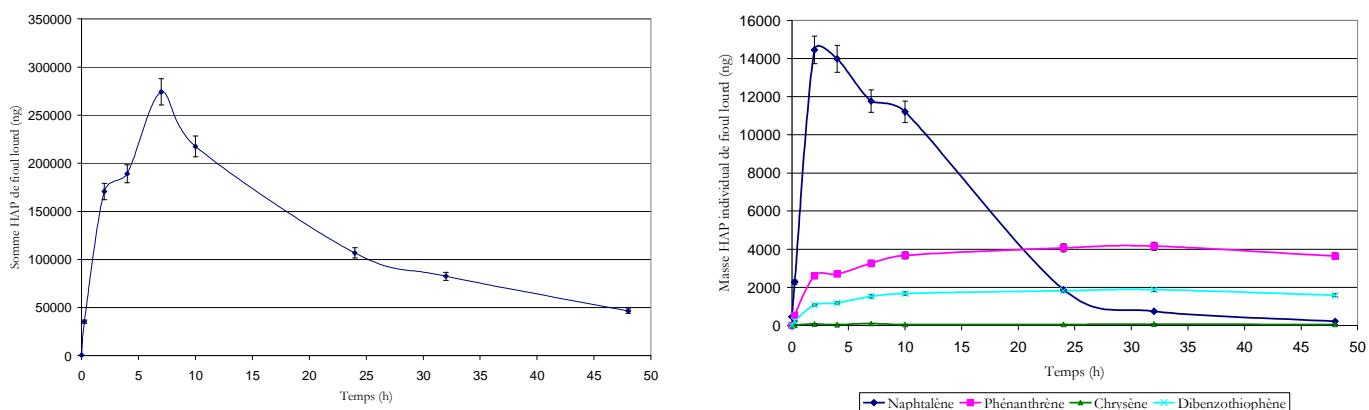


Figure B.11. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Fioul lourd.

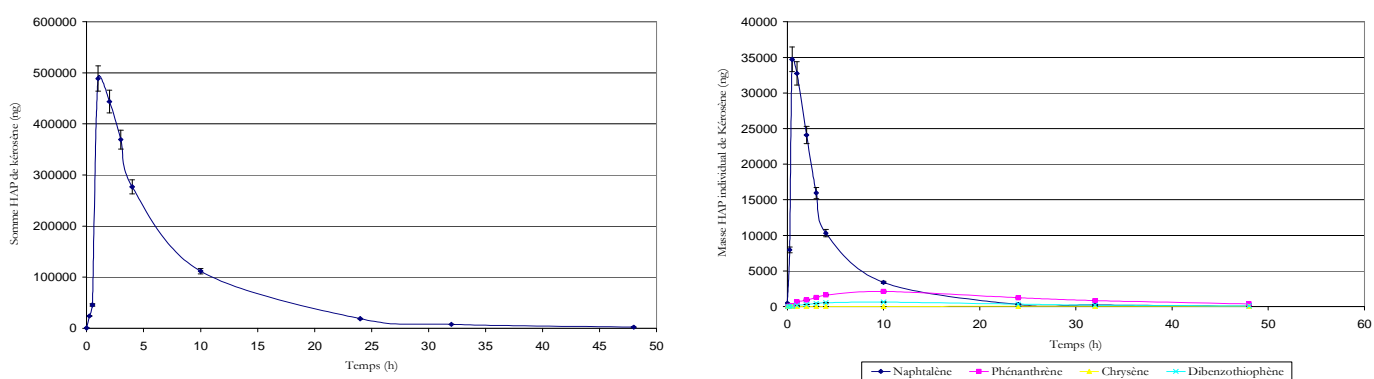


Figure B.12. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Kérosène.

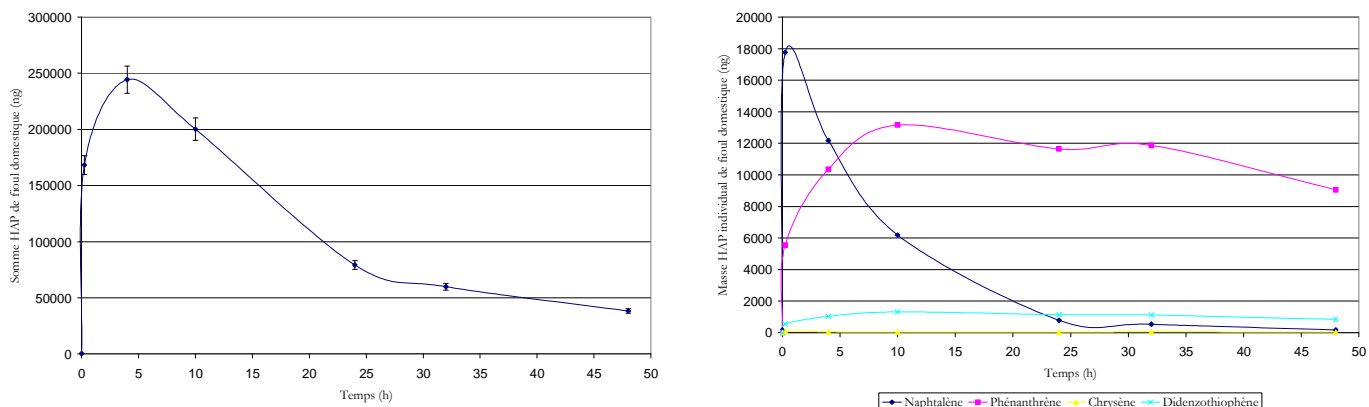


Figure B.13. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Fioul domestique.

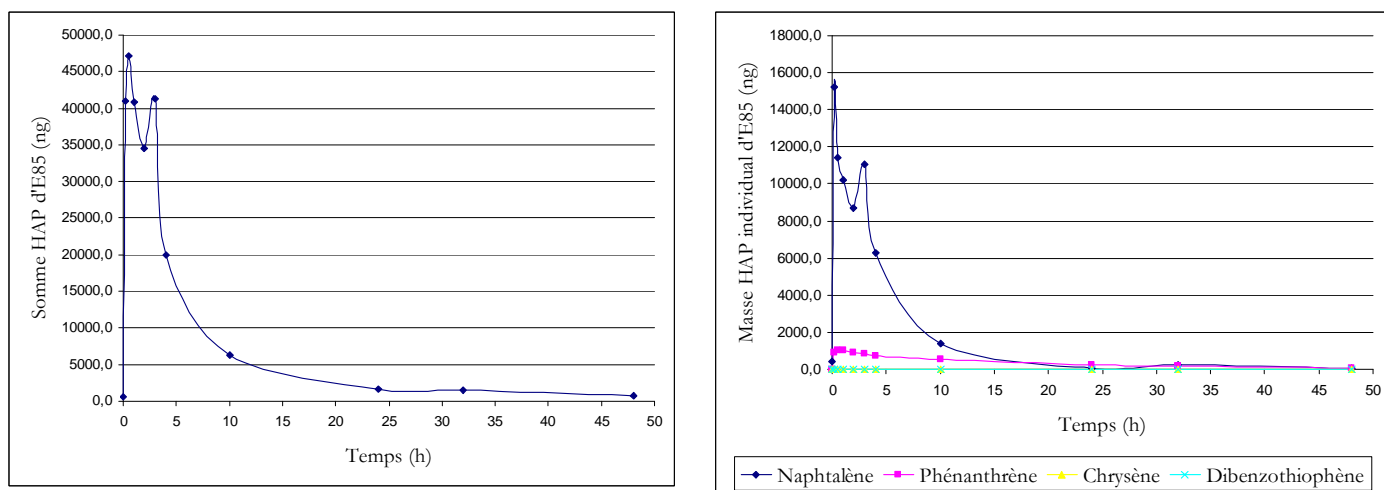


Figure B.14. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt d'E85.

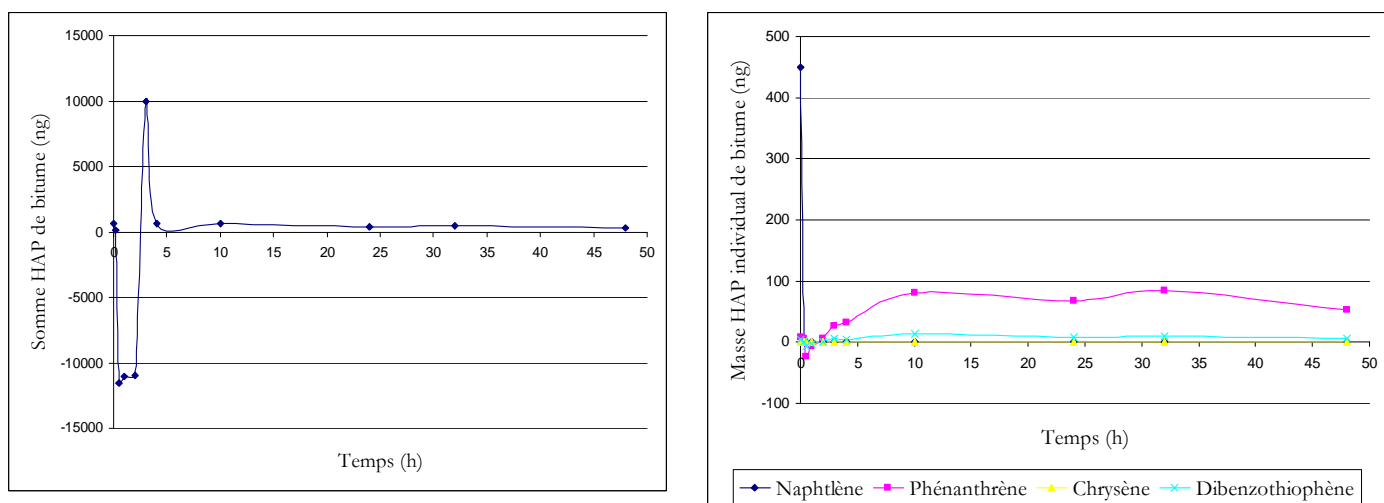


Figure B.15. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de bitume.

La durée de mise en contact est un paramètre important dans la préparation des fractions solubles. En effet, le comportement observé des molécules évolue différemment dans le temps : tous les composés ne convergent pas vers une asymptote correspondant à une limite maximum de solubilisation. Une augmentation puis une diminution de la concentration en HAP dans l'eau au cours du temps est mise en évidence et ce, quel que soit l'hydrocarbure. Ces deux étapes peuvent être interprétées comme le résultat de trois processus: (1) une solubilisation partielle des HAP dans l'eau, (2) la vaporisation des HAP à partir de la fraction soluble et (3) la vaporisation des HAP à partir du produit pétrolier.

Il est clair que l'allure de la courbe de la somme des masses des composés étudiés est guidée par les composés légers (naphtalène et dérivés), qui masquent la présence des composés plus lourds. En effet, les naphtalènes (spécialement le naphtalène et les C1-naphtalènes) sont davantage présents dans la fraction soluble en raison de leur faible valeur de log Kow. Cette observation a été mise en évidence sur l'ensemble des hydrocarbures étudiés.

Les naphtalènes sont la composante dominante du profil des HAP en raison de leur grande solubilité dans l'eau mais ils sont également plus affectés par le processus de volatilisation subséquente. Au contraire, les molécules plus lourdes telles que les phénanthrènes / anthracènes ont été caractérisées par une cinétique plus lente de solubilisation mais le processus de volatilisation semblait être moins important. Compte tenu de ces divers comportements, les propriétés physico-chimiques initiales des hydrocarbures testées devraient entraîner des différences significatives entre les produits. Comme illustré par la Figure B.16, le temps de contact correspondant au maximum de solubilisation est lié à la nature des produits. Il semble que cela soit directement lié à la proportion relative des molécules légères. Cette proportion peut être évaluée grâce à deux paramètres: la densité de l'hydrocarbure et la coupe de distillation qui indiquent des composés susceptibles de s'évaporer dans les conditions réelles de température (valeur inférieure à 250°C). La relation entre le temps nécessaire pour obtenir le maximum de solubilisation et la distribution relative entre les composés légers et les composés lourds est ainsi avérée (Figure B.17).

Dès lors, le temps de contact optimal entre l'eau et l'hydrocarbure pour une dissolution maximale de HAP a été sélectionné à 1 heure pour toutes les huiles car leur solubilité maximum est obtenue au bout d'1 heure, à l'exception des carburants lourds où un temps de 2 heures a été préféré, sur la base du comportement de chaque HAP. Ce sont les valeurs qui ont été choisies pour effectuer un plan d'expériences de type Taguchi où l'influence des paramètres (température, rapport hydrocarbure / eau, salinité, matières en suspension) a été étudiée en relation avec la fraction soluble dans la partie C. Ces valeurs correspondent en effet au temps nécessaire pour atteindre un niveau raisonnable d'équilibre fonctionnel à l'intérieur de la colonne d'eau et pour que la préparation de la phase aqueuse puisse être considérée comme saturée en composés solubles disponibles (Singer al. 2000) (Faksness et al. 2008).

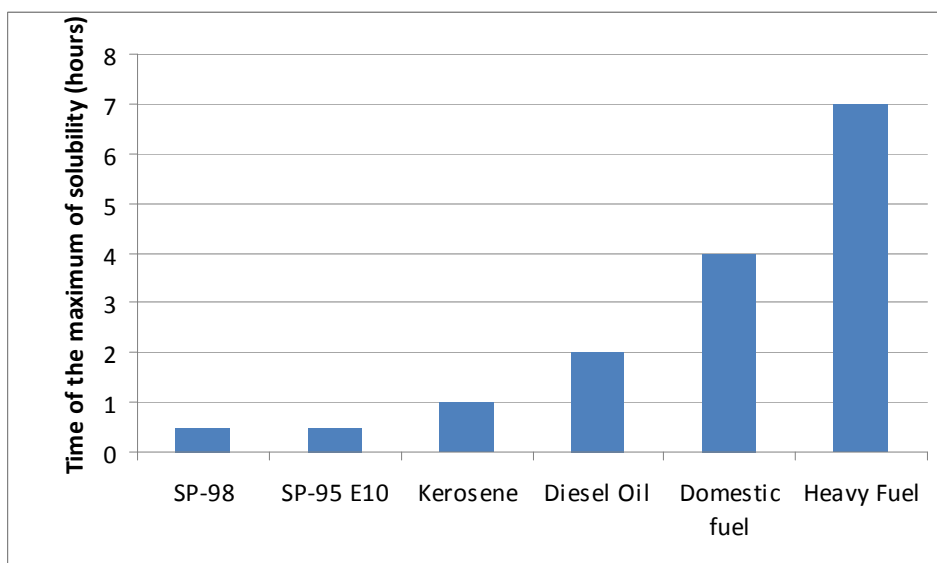


Figure B.16. Maximum de solubilité des hydrocarbures

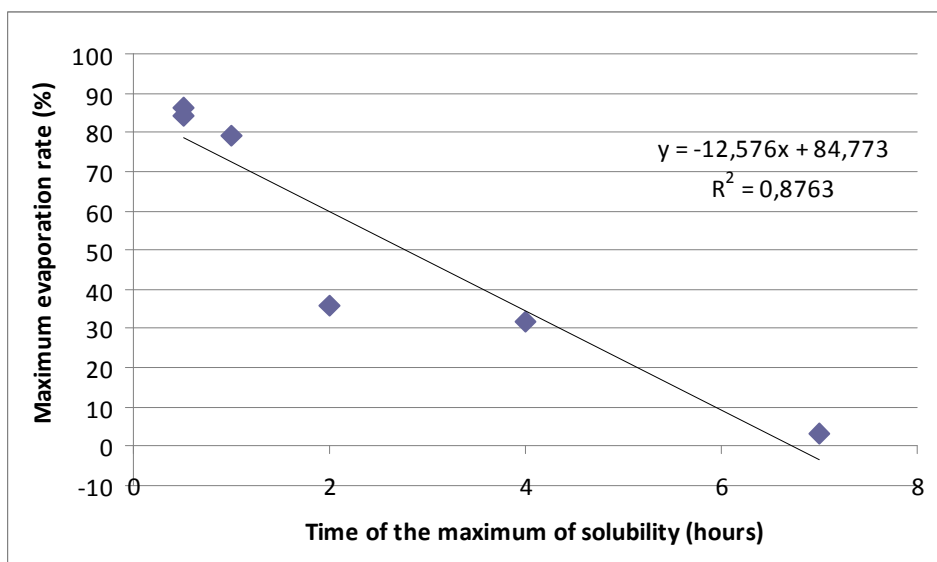


Figure B.17. Corrélation entre le temps du maximum de solubilisation et la distribution relative entre composés légers et lourds.

2.2.1.3 Influence de la teneur en éthanol des composés oxygénés

Parmi les hydrocarbures étudiés, les essences sont formulées avec de l'éthanol. Outre le SP98 qui contient quelques pourcents d'éthanol pour ajuster l'indice d'octane, le SP95-E10 comprend 10% d'éthanol en volume et le E85 inclut 85% d'éthanol. Il s'agit de carburants disponibles commercialement, mais l'utilisation du SP 95-E10 est davantage répandue que celle du E85. Notons que l'intérêt d'introduire de l'éthanol est d'utiliser une proportion de carbone renouvelable dans les carburants fossiles et de réduire l'impact environnemental en matière d'émissions de gaz à effet de serre.

Les essais effectués sur les trois hydrocarbures permettent d'étudier l'influence d'un composé oxygéné sur les processus de solubilisation, même si les bases hydrocarbonées n'ont pas les mêmes compositions.

Rappelons que d'après les analyses réalisées (Figure B.3), l'essence SP95-E10 est la plus chargée en HAP parmi les trois essences étudiées. SP95-E10 présente la plus forte teneur en naphthalène et, comparée aux deux autres, SP98 la teneur la plus élevée en phénanthrène.

Tout d'abord, d'après le Tableau B.11, il est observé que l'addition de 10% d'éthanol augmente la solubilité globale comme l'indique la somme des HAP mais le transfert est différent selon le type de HAP : l'éthanol augmente la solubilité des composés les plus hydrophobes avec un K_{ow} élevé, comme le phénanthrène et diminue le transfert des composés moins hydrophobes (comme le naphthalène). Ce comportement est dû à l'effet de co-solvant de l'éthanol ajouté à l'hydrocarbure (Corseuil et al. 2004). Ce processus conduit à une nouvelle répartition des HAP dans la phase aqueuse comparé au cas de l'essence sans éthanol.

Pour les trois essences, la Figure B.18 présente le pourcentage de HAP dissous dans l'eau par rapport à la masse totale déposée. On observe des pourcentages de dissolution décroissants avec le temps. Le E85 donne lieu à un pourcentage de dissolution le plus important par rapport à la nappe initiale, suivi du SP95-E10. Ce profil confirme l'effet de co-solvant de l'éthanol favorisant le transfert de HAP dans l'eau.

Lorsqu'on examine les masses dissoutes pour les trois essences (Figure B.19), on remarque un pic de solubilisation qui intervient au même moment pour les trois composés (environ au bout d'une heure), suivi d'une diminution assez rapide de la masse solubilisée. C'est le SP95-E10 qui génère la quantité de HAP la plus élevée dans l'eau : c'est en effet, le composé qui en contient le plus. D'ailleurs, c'est la fraction solubilisée du SP95-E10 qui persiste le plus longtemps dans l'eau. Néanmoins, la masse maximale atteinte par la fraction soluble de SP95-E10 (proche de 145 000 ng) reste bien inférieure à celle observée pour le pic de solubilisation du kérosène (autour de 500 000 ng). Elle est de l'ordre de grandeur de la masse solubilisée à partir du gasole.

On note que les masses maximales solubilisées pour E85 et SP98 sont similaires. Le SP98 contient davantage de HAP que le E85, mais, il transfère moins que le E85. Les cinétiques de solubilisation sont très proches pour ces deux composés et correspondent donc à un impact environnemental moindre comparé au SP95-E10.

Tableau B.11. Pourcentage (%) de solubilisation des HAP dans l'eau pour le SP98, le SP95-E10 et E85

Temps (h)	0,25	0,25	0,25	4	4	4	10	10	10
Hydrocarbure	SP98	SP95-E10	E85	SP98	SP95-E10	E85	SP98	SP95-E10	E85
Sommes HAP	3,07	11,10	46,92	4,23	8,00	23,46	2,27	4,86	7,59
Naphtalène	12,78	8,58	30,48	6,97	4,92	13,00	2,77	1,07	3,53
Phenanthrène	9,91	25,19	50,03	24,88	40,19	40,89	17,72	26,48	30,72
Chrysène	0,10	2,65	0,00	3,36	3,87	0,00	2,80	2,97	0,00
Dibenzothiophène	0,13	0,10	0,00	0,25	0,04	0,00	0,34	0,10	0,00

Temps (h)	24	24	24	32	32	32	48	48	48
Hydrocarbure	SP98	SP95-E10	E85	SP98	SP95-E10	E85	SP98	SP95-E10	E85
Sommes HAP	0,98	1,81	2,38	0,69	0,76	1,91	0,35	0,35	0,94
Naphtalène	0,91	0,11	0,32	1,02	0,16	0,73	0,33	0,11	0,36
Phenanthrène	10,77	20,06	15,58	7,97	10,13	11,11	4,39	3,96	0,48
Chrysène	2,89	5,15	0,00	2,47	6,64	0,00	1,84	6,50	0,00
Dibenzothiophène	0,44	0,10	0,00	0,45	0,10	0,00	0,39	0,10	0,00

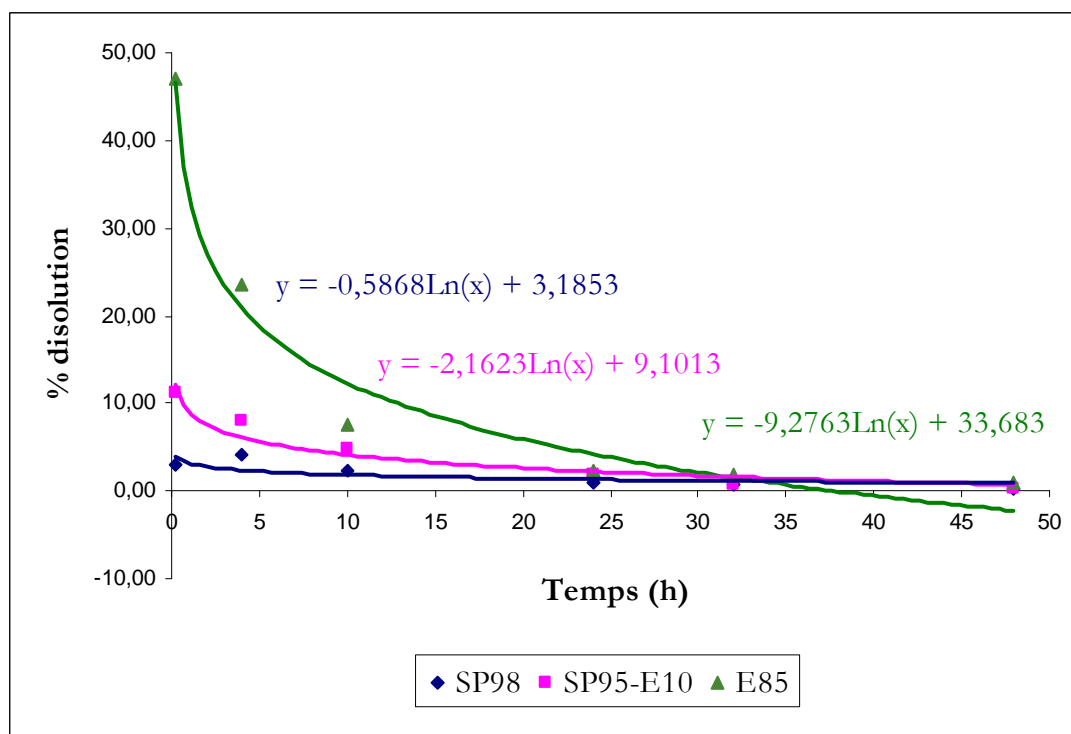


Figure B.18. Pourcentage de solubilisation des sommes des HAP pour trois essences

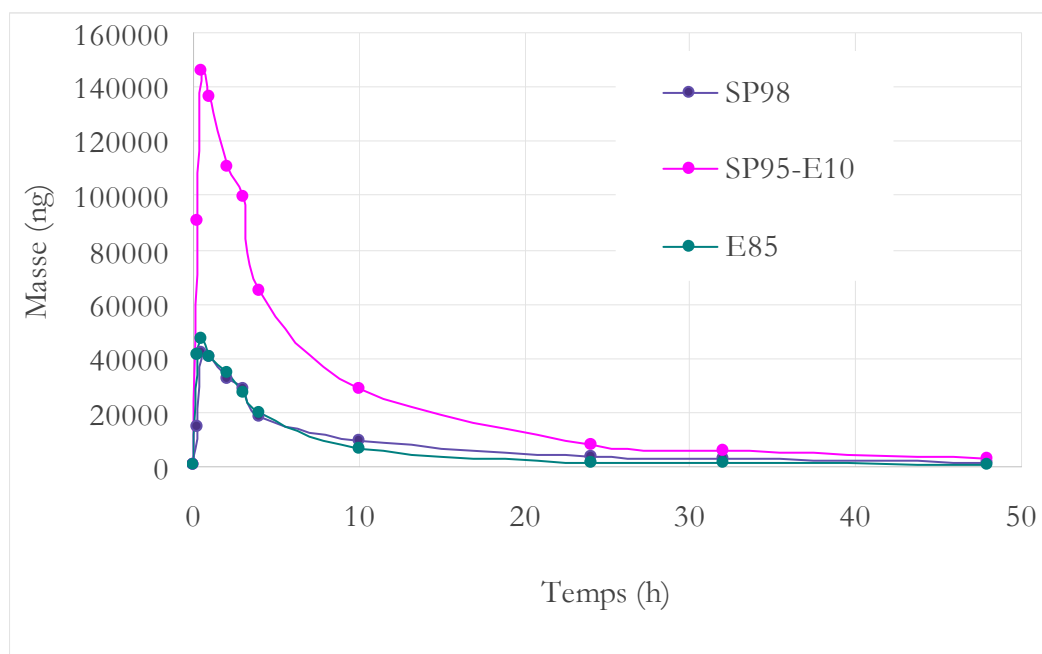


Figure B.19. Comparaison des masses solubilisées

2.2.2 Essais dynamiques à l'échelle du polludrome

Ces essais ont pour objectif de déterminer la fraction soluble de plusieurs types d'hydrocarbures en se plaçant à l'échelle pilote (volume d'eau d'environ 8m^3), et en simulant partiellement les conditions dynamiques d'une rivière (création d'un courant). L'eau du réseau d'adduction d'eau potable a été choisie pour éviter les biais générés par des teneurs en particules en suspension non maîtrisables.

L'altération des pétroles bruts est complexe car différents processus (évaporation, dissolution, émulsification, photo-oxydation, ...) ont lieu simultanément. Il existe des méthodes de laboratoire pour simuler chacun de ces différents procédés. Par exemple, l'évaporation peut être simulée par une simple distillation ou par évaporation rotative.

Toutefois, aucune méthode de laboratoire n'existe pour tenir compte de tous les paramètres simultanément et pour simuler l'ensemble du processus de vieillissement. Afin de simuler ces différents phénomènes, le CEDRE a équipé ses installations avec un canal hydraulique (Figure B.20) dans lequel un courant marin ou le mouvement des eaux intérieures peuvent être recréés sous l'effet d'un vent et de vagues. Ce canal est constitué d'une boucle dans laquelle l'eau peut circuler. De grandes fenêtres situées le long du canal permettent de réaliser des observations à la surface de l'eau et dans la colonne d'eau. Le canal est situé dans une salle climatisée et est équipée d'un batteur d'onde (période réglable), de générateurs de courant et de vent et de lampes UV. Avec cet équipement, il est possible d'étudier des échantillons d'une huile spécifique sous une variété de conditions climatiques.

Les caractéristiques générales du canal sont les suivantes:

- Dimensions de canal : largeur = 0,6 m ; hauteur = 1,4 m ; profondeur moyenne de l'eau = 0,9 m ;
- Vagues caractéristiques typiques : période de 3 secondes, amplitude $\pm 0,1$ m ;
- Chambre climatique : de 1 à 30 ° C.

Tous les tests ont été effectués en supposant une faible énergie de mélange correspondant à des conditions de rivière (pas de vagues et une légère agitation générée par le courant de vent). Environ 15 échantillons d'eau ont été prélevés à différents temps (1 heure à 3 jours).

2.2.2.1 Protocole expérimental

La mise en eau du Polludrome a été effectuée quelques jours avant l'essai afin que la température de l'eau du réseau atteigne la température ambiante fixée à 20°C. Les conditions expérimentales appliquées pour la première série d'essais sont les suivantes :

- Le volume d'eau est de $7,56\text{m}^3$ (hauteur d'eau de 90cm pour une surface de $8,4\text{m}^2$).
- La vitesse de courant appliquée est en moyenne de $0,3\text{m.s}^{-1}$ et la vitesse de vent de 5m.s^{-1} .

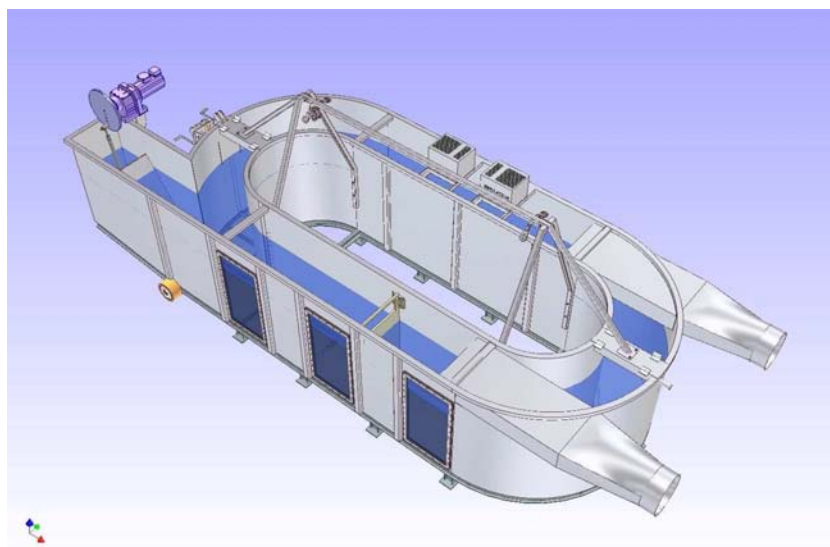
- Tous les produits sont testés, excepté le bitume car ce dernier ne forme pas de nappe à la surface de l'eau dans ces conditions dynamiques.
- Pour comparer avec les essais menés à l'échelle du laboratoire, la quantité déversée a été fixée à environ 10mL d'hydrocarbures pour chaque produit, ce qui correspond à une couverture d'environ 10% de la surface du canal.
- Des essais complémentaires ont été réalisés avec des dépôts de gazole de 50 et 200mL en eau douce et de 50mL en eau de mer.
- La fréquence d'échantillonnage est sensiblement adaptée au cas des produits testés. Par exemple, pour les produits les plus volatils tels que l'essence, la durée totale du suivi n'excède pas 24 heures avec un échantillonnage resserré. Les fréquences de prélèvements réalisées sont rassemblées dans le Tableau B.12.

Tableau B.12. Temps de prélèvement

Produit	Temps de prélèvement (h)
IFO380, gazole, fioul domestique et kérosène	0 (Blanc) ; 1 ; 2 ; 3 ; 5 ; 8 ; 13 ; 24 ; 27 ; 30 ; 33 ; 48 ; 51 ; 54 ; 57 et 72
Essences (SP 95-E10 et SP 98)	0 (Blanc) ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 13 et 24

Il est à noter l'importance des blancs quand il s'agit d'un dispositif expérimental régulièrement utilisé pour l'étude de pétroles bruts qui sont des produits pétroliers généralement peu volatils en comparaison des raffinés légers.

A chaque temps de prélèvement, 3 échantillons de 100mL sont prélevés pour les analyses par SBSE. Tous les prélèvements sont réalisés à 30cm de profondeur localisés en même point A du canal (Figure B.20).



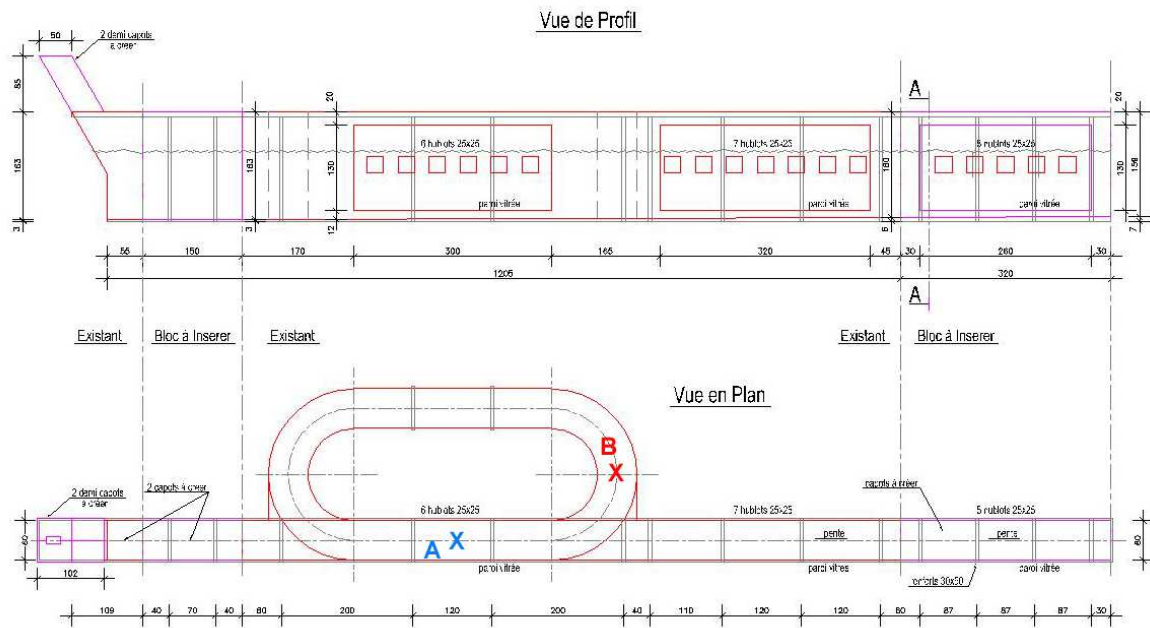


Figure B.20. Schéma du polludrome

L'analyse des prélèvements est effectuée selon la même méthode que pour les essais statiques en laboratoire.

2.2.2.2 Résultats

Les tests effectués à l'échelle pilote ont été caractérisés pour les conditions dynamiques utilisées dans le polludrome : l'eau a été mise en circulation continue et un courant de vent a été créé, ce qui accélère le processus d'évaporation. Le comportement d'une nappe de carburant gazole a ainsi été étudié. La photographie de la Figure B.21 montre la dérive de la nappe d'hydrocarbure à la surface du polludrome.



Figure B.21. Nappe d'hydrocarbures à la surface du polludrome

Avant les essais, le bruit de fond mesuré est de l'ordre du $\mu\text{g/L}$. Il est dû à l'accumulation de HAP provenant d'essais antérieurs. C'est pourquoi, les valeurs mesurées lors des différents essais ont été corrigées par la valeur initiale obtenue lors de chaque test.

2.2.2.2.1 Cinétiques de dissolution pour un dépôt de 10mL

Les cinétiques de dissolution de chaque produit ont été modélisées à l'aide du logiciel Sigmaplot capable de décrire les évolutions de concentrations en fonction du temps. Les teneurs des sommes des 41 HAP en $\mu\text{g.L}^{-1}$ de chaque hydrocarbure testé figurent en annexe I. Des courbes s'appuyant sur les données expérimentales ont ainsi pu être tracées. Ces courbes permettent d'illustrer, en première approche, les cinétiques de dissolution propres à chaque produit, ainsi que les quantités de composés aromatiques transférés dans la colonne d'eau (Figure B.22).

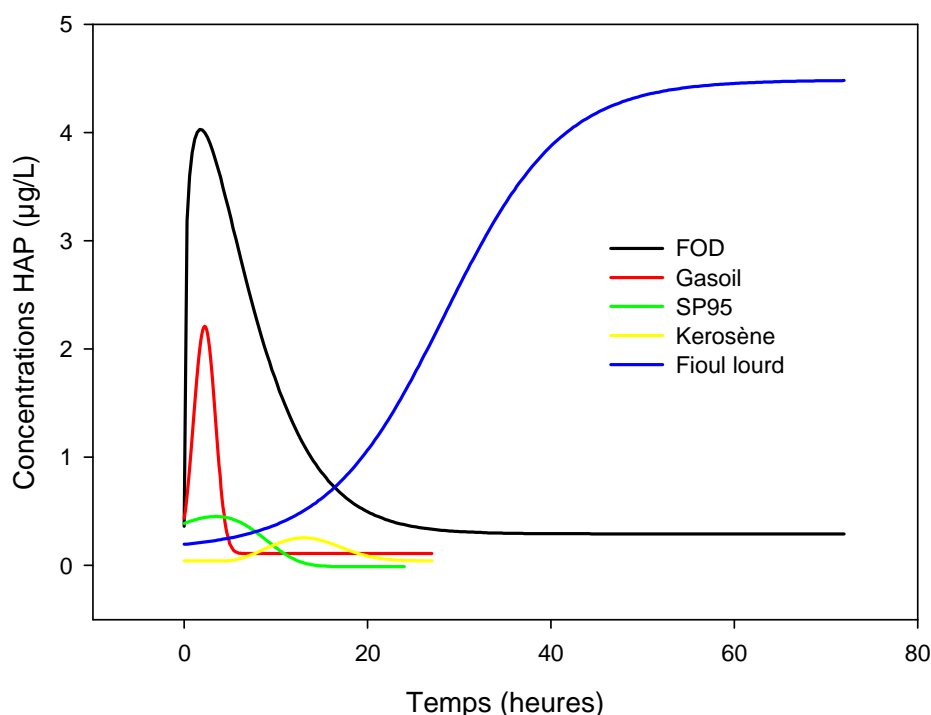


Figure B.22. Lissage des cinétiques de dissolution des produits pétroliers testés

Ainsi, il apparaît que les maxima de dissolution sont en accord avec les teneurs globales mesurées dans ces différents produits raffinés (Figure B.1). Le fioul lourd se singularise par une évolution relativement lente de la cinétique de dissolution, ce qui s'explique par la présence majoritaire de composés lourds et ce comportement est en adéquation avec sa courbe de distillation. Par ailleurs, la croissance continue observée pour ces molécules à haut poids moléculaire s'explique par la faible volatilisation des fractions solubilisées. Les gazoles et fioul domestiques ont des comportements proches, avec des distributions en HAP et des courbes de distillation voisines. Les différences de valeurs maximales sont également en accord avec les teneurs globales initiales en HAP de ces deux produits pétroliers.

Enfin, pour les produits les plus légers, (Base kérosène, SP95-E10) les valeurs obtenues lors des expérimentations sont proches du bruit de fond.

2.2.2.2.2 Influence de l'échelle : Comparaison des essais laboratoire et polludrome

La concentration de la somme des HAP en fonction du temps pour les essais menés en polludrome a été comparée aux essais réalisés au laboratoire et, cela, pour un même rapport huile/eau. Le volume de gazole déposé à la surface de l'eau dans le polludrome est notamment de 50mL.

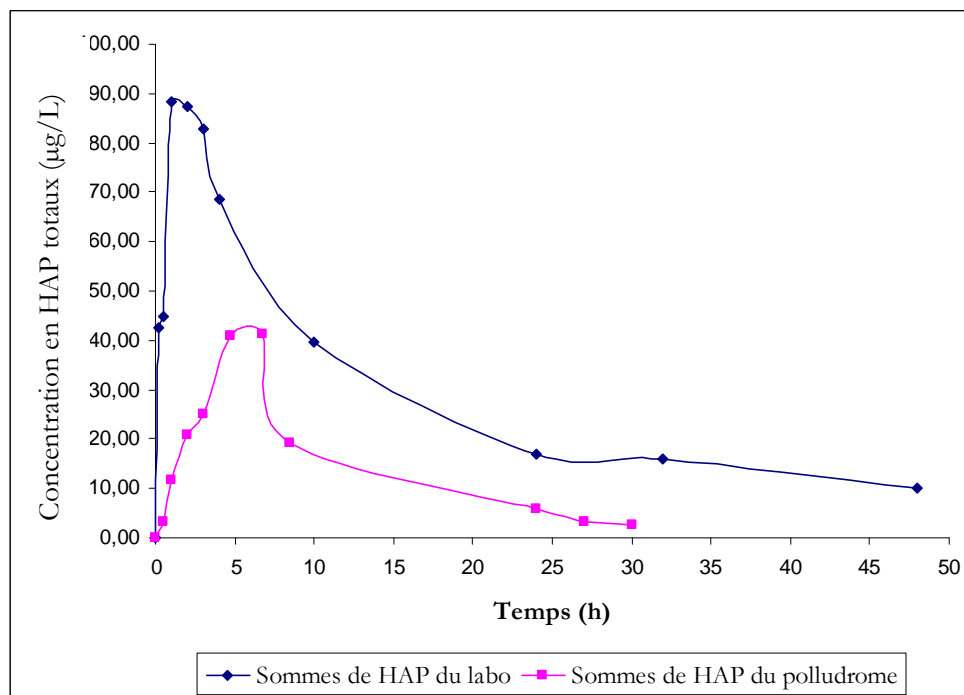


Figure B.23. Concentration en HAP totaux à l'échelle laboratoire et en polludrome pour un dépôt de gazole de 50mL

On constate que l'optimum de solubilisation est plus tardif à l'échelle du polludrome qu'à l'échelle du laboratoire. En effet, comme le montre la Figure B.23, le processus d'évaporation est plus important à l'échelle du polludrome (sous un courant de vent) et conduit à une plus forte concentration de molécules lourdes dans la nappe. Ces molécules ont une cinétique de solubilisation plus lente.

En outre, les valeurs maximales ne sont pas directement liées à la capacité de solubilisation du milieu : le rapport des volumes hydrocarbure/eau est 100 fois plus élevé pour les tests de laboratoire, mais il n'y a que deux fois plus de HAP dissous. Cela signifie que les valeurs sont proches du maximum de solubilisation des HAP à l'échelle pilote et, encore plus, à l'échelle laboratoire : le milieu est saturé par les HAP.

2.2.2.2.3 Influence du rapport hydrocarbure/eau à l'échelle polludrome

L'influence de la quantité déversée a été étudiée avec différents dépôts de gazole en eau douce. La Figure B.24 fait état des résultats obtenus pour des dépôts de 10, 50 et 200mL. Le test réalisé à 10mL est proche du bruit de fond alors que les deux essais réalisés avec respectivement 50 et 200mL présentent des niveaux de solubilisation plus importants. Toutes les courbes présentent un maximum de solubilisation, qui est, d'une part, proportionnel aux quantités déversées et

d'autre part décalé dans le temps quand les quantités déversées augmentent. Pour les dépôts de 10 et 50mL, les optima de solubilisation (autour de 3 et 40 μ g/L) sont atteints respectivement au bout de 2,5 h et 6 h. Pour un dépôt de 200mL on peut estimer que le maximum de solubilisation (autour de 65 μ g/L) est atteint entre 15 et 25h. Le temps nécessaire pour atteindre le maximum semble directement lié à la quantité d'hydrocarbure, ce qui peut s'expliquer par la compétition entre les différents processus. Le rapport maximal correspond à une nappe continue d'environ 24 μ m d'épaisseur, ce qui limite le processus de volatilisation, en dépit du courant de vent (taux d'évaporation théorique maximale proche de 36%, Tableau B.3). Les concentrations de HAP augmentent donc régulièrement au cours du temps. En ce qui concerne les deux rapports inférieurs, la volatilisation est moins affectée par le film d'hydrocarbure (épaisseurs de respectivement 6 μ m et 1 μ m) et le pic de solubilisation est observé plus tôt et à des niveaux inférieurs.

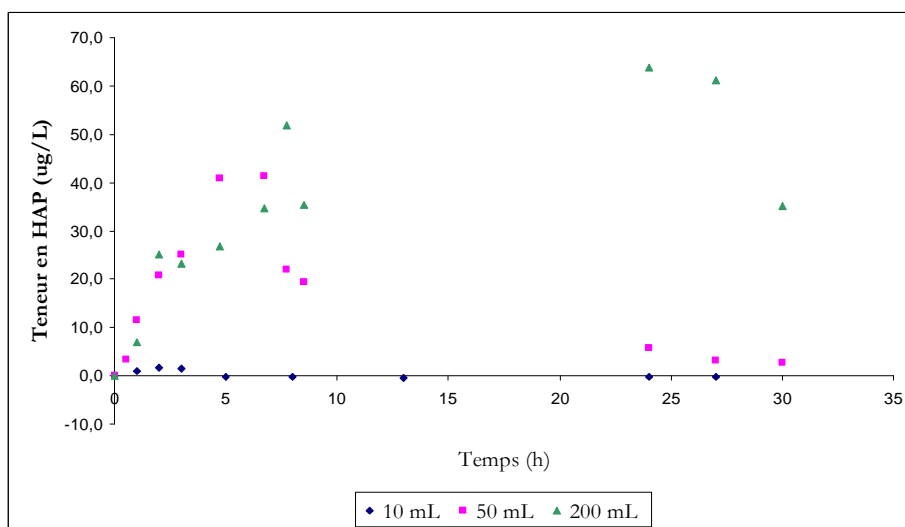


Figure B.24. Influence du ratio sur la cinétique de solubilisation du gazole en polludrome

2.2.2.2.4 Influence de la salinité

L'influence de ce paramètre a été étudiée pour un dépôt de 50mL de gazole dans l'eau de mer. La Figure B.25 montre que l'eau de mer limite la solubilité du gazole puisque le maximum de solubilité atteint est proche 10 μ g/L au lieu de 55 μ g/L dans l'eau douce. Dans les deux cas, les maxima de solubilité sont atteints au bout de 5 heures. Les cinétiques montrent également que pour l'eau douce, la teneur en hydrocarbures solubles décroît alors que cela n'est pas le cas pour l'eau de mer, ce qui signifie que la salinité a tendance à diminuer le phénomène d'évaporation des hydrocarbures.

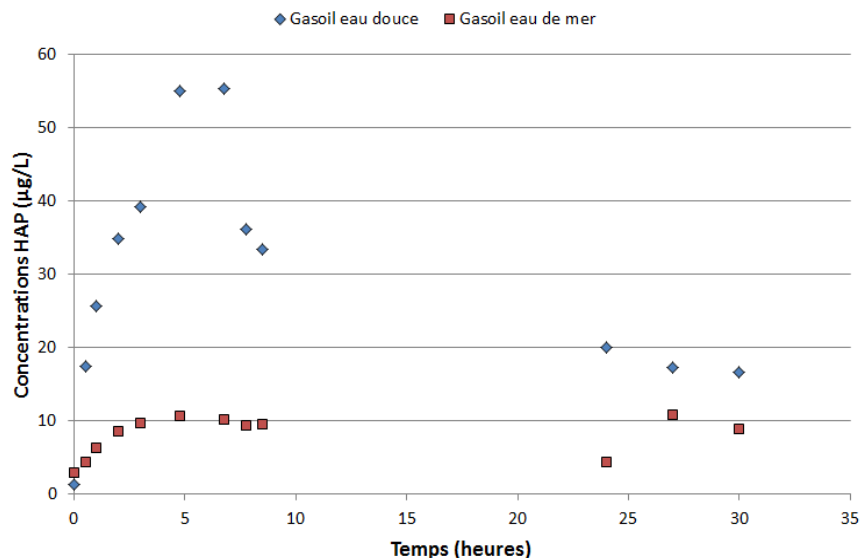


Figure B.25. Influence de la salinité sur la cinétique de solubilisation (dépôt 50mL) du gazole en polludrome

Les cinétiques observées doivent être interprétées comme le résultat de la concurrence entre l'évaporation, la solubilisation et la volatilisation. La cinétique et le maximum de solubilité dépendent de la nature des produits et en particulier de la distribution relative des HAP. Les produits les plus solubles, caractérisé par un coefficient de partage octanol- eau plus faible, sont également les plus volatils. Mais nous avons constaté que les molécules les plus lourdes comme le phénanthrène qui enrichissent progressivement la fraction soluble génèrent des pics de solubilité décalés dans le temps.

L'addition de composés oxygénés miscibles à l'eau, tels que l'éthanol, augmente la solubilité globale des HAP, car la solubilité de la plupart des composés hydrophobes est accrue, composés ayant le plus fort Kow tels que le phénanthrène. Ainsi, pour l'essence oxygénée SP95-E10, la fraction soluble présente une distribution des HAP dissous différente, une masse plus abondante et persistante dans l'eau, comparées aux deux autres essences. SP98 et E85 ont des fractions solubles totales plus faibles et comparables, avec probablement un impact environnemental réduit.

La comparaison entre les résultats obtenus à l'échelle laboratoire et les résultats obtenus à l'échelle pilote montre clairement que les conditions dynamiques (eau et courant de vent) favorisent le processus d'évaporation des molécules les plus volatiles.

3 CHAPITRE III. REPARTITION DES HAP SELON LES DIFFERENTES PHASES (DISSOUTE, SURNAGEANTE ET EVAPOREE) ET TENSION SUPERFICIELLE

Les bilans matières ont été réalisés, pour différents temps de prélèvements, en déterminant la teneur des différents HAP dans les divers compartiments où ils sont susceptibles d'être transférés. L'objectif de ces travaux est la réalisation de bilans massiques en HAP : évaluation de la fraction soluble, de la fraction surnageante et (par différence) de la fraction évaporée. Les six produits différents étudiés sont : le gazole, la base kérosène, le fioul lourd, le fioul domestique, l'essence SP98 et l'essence SP95-E10.

3.1 MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1.1 Expérimentation

3.1.1.1 Protocole à l'échelle laboratoire

3.1.1.1.1 Béchers de 3 L

Le protocole pour obtenir la fraction soluble dans l'eau a été décrit dans le chapitre précédent. Seules les quantités initiales de produits ont été modifiées. 2000g d'eau Milli-Q ont ainsi été introduits dans un bécher en verre de 3L. 200 mg d'hydrocarbure ont été déposés sur la surface de l'eau, respectant un rapport de surface hydrocarbure/eau d'environ 10 %. Une agitation douce sans vortex et effectuée dans l'obscurité à 20°C a été assurée pour permettre la diffusion des molécules. Un étalon en C20 (500µg/mL, LGC Standards) a été ajouté afin d'évaluer la quantité évaporée.

Les temps de mélange ont été fixés à 1 h, 3 h, 6 h, 10 h, 24 h et 48 h. Tout d'abord, la totalité de la nappe a été échantillonnée avec une pipette jaugée de 100mL après un temps donné de contact avec le produit. L'échantillon a été séparé dans une ampoule à décanter afin de récupérer la fraction organique. L'ampoule a été rincée avec 10mL de dichlorométhane. Un aliquote de 2mL a ensuite été échantillonné et stocké à +4 °C pour analyse par GC/MS. Puis la fraction soluble a été échantillonnée avec une pipette jaugée de 100mL afin de prélever un échantillon d'eau sans hydrocarbure, après un temps de contact donné avec l'hydrocarbure. Cette fraction a été extraite selon la technique SBSE décrite précédemment.

3.1.1.1.2 Contenants de 7200 L

Des essais avec des quantités plus importantes (Figure B.26) ont été réalisés selon le même protocole au CEDRE sur 3 produits caractéristiques de la diversité des raffinés testés : le SP95, le gazole et le fioul lourd. 50mL d'hydrocarbure ont été introduits dans des volumes de 7200 L d'eau Milli-Q. Cependant, seuls les résultats obtenus avec le gazole ont pu être exploités. En effet, le SP95 s'est évaporé trop rapidement pour pouvoir effectuer un échantillonnage en surface alors

que la nappe de fioul lourd (Figure B.27) présentait trop d'hétérogénéité pour permettre l'exploitation des analyses quantitatives.



Figure B.26. Bilans matières à l'échelle du laboratoire

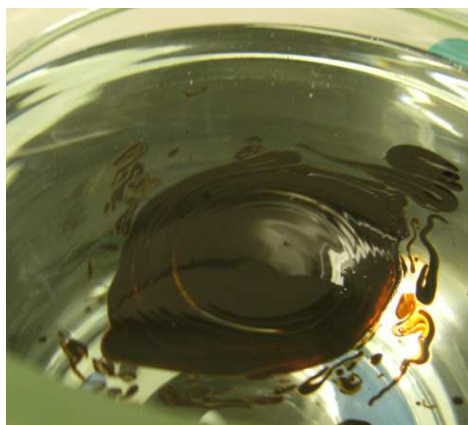


Figure B.27. Nappe de fioul lourd

3.1.1.2 Protocole à l'échelle du polludrome

Le protocole expérimental a été décrit dans le chapitre précédent. A chaque temps de prélèvement, 3 échantillons de 100mL sont prélevés pour les analyses par SBSE.

La quantité solubilisée est déterminée à partir des concentrations dans la colonne d'eau et de son volume. La proportion en HAP restants dans la nappe est estimée par une approche semi-quantitative : leur abondance est exprimée relativement à un composé conservatif (non volatil et non soluble). La comparaison de cette abondance avec la valeur initiale indique la proportion toujours présente au sein de la nappe. Les teneurs initiales ayant été déterminées par une analyse quantitative, la combinaison de ces deux paramètres permet d'accéder à une masse de chaque HAP présent dans la nappe. Enfin, pour chaque temps de prélèvement, connaissant la quantité en phase aqueuse et en phase « huile », la quantité évaporée est calculée par différence en tenant compte de la quantité initiale déversée.

3.1.2 Analyse des HAP

La méthode analytique utilisée pour les 15 HAP à partir de la liste des polluants prioritaires de l'US-EPA et des 26 dérivés des HAP les plus solubles (Tableau B.5), est présentée ci-après.

3.1.2.1 HAP dans l'eau (fraction soluble) : SBSE-TD-GC-MS

A 100 mL d'échantillons d'eau ont été ajoutés 10 mL de méthanol contenant les 5 étalons internes deutérés à la concentration de 1 ng.mL⁻¹ (concentration finale de 100 ng.L⁻¹ dans l'eau). Les barreaux (Twister® 20 mm x 0,5 mm PDMS par Gerstel) ont été ajoutés aux échantillons d'eau et laissés sous agitation à 700 tr/min pendant deux heures.

Les barreaux ont ensuite été récupérés à l'aide de pinces, séchés sur du papier absorbant et stockés dans un flacon à +4 °C pour la suite des analyses en GC/MS (Guyomarch and Van Ganse 2010). Les analyses ont été effectuées en utilisant une unité de désorption thermique combinée avec un système d'injection refroidi, de la marque Gerstel (Mülheim an der Ruhr, Allemagne) monté sur un équipement de CPG (Agilent 7890) et couplé à un spectromètre de masse Agilent 5975 (Agilent Technologies, Little Falls, DE, USA).

La chaîne d'analyse a été équipée d'un échantillonneur automatique MPS2 (Gerstel). La désorption a été réalisée à 300 °C pendant 10 minutes sous un débit d'hélium de 50 mL.min⁻¹ en mode splitless et avec une ligne de transfert maintenue à 300 °C. Les composés désorbés ont été cryogénisés dans un système d'injection refroidi (CIS-4, Gerstel) à 10 °C, puis transférés à la colonne HP-5MS (30 m x 0,25 mm x épaisseur du film 0,25 µm, à débit constant d'hélium de 1 mL.min⁻¹) par une augmentation rapide de la température (de 10 °C à 300 °C à 12 °C.s⁻¹). Pour l'analyse des HAP, la température initiale du four est de 50 °C (1 min) suivi d'une augmentation à 150°C à 10 °C.min⁻¹, puis à 320 °C (5 min) à 5 °C.min⁻¹. Le spectromètre de masse fonctionne en mode SIM avec un minimum de 2 cycles par seconde. La quantification a été réalisée en utilisant l'ion moléculaire de chaque HAP. Les molécules cibles ont été quantifiées par rapport aux HAP deutérés (étalon interne) en utilisant une courbe d'étalonnage (entre 0,1 et 100 ng.L⁻¹) avec un coefficient de régression supérieur à 0,99. La limite de quantification expérimentale est inférieure à 1 ng.L⁻¹ pour chacun des composés.

3.1.2.2 HAP dans les carburants (fraction initiale et dans la nappe) : GC-MS

L'analyse a été réalisée comme précédemment sauf pour la technique d'injection. L'injecteur a été utilisé en mode splitless (durée du splitless : 1 min puis débit à 50 mL.min⁻¹). La température d'injection est maintenue à 300 °C. Les HAP ont été quantifiés dans les carburants à l'état initial (sans vieillissement) par rapport aux HAP deutérés (étalon interne) en utilisant une courbe d'étalonnage (de 0,1 et 100 ng.L⁻¹). Une méthode semi-quantitative a été appliquée à la nappe. Dans cette perspective, la fraction des molécules qui disparaît de la nappe a été évaluée par rapport à un composé ou à un groupe de composés présents dans la nappe, assez abondants, peu volatils et de faible solubilité. Dans le cas de produits comportant un résidu à 250 °C, supérieur à 30%, des composés de poids moléculaire égal ou supérieur au C3-phénanthrène ont été choisis. Pour les produits plus légers (essence et kérosène), comme aucun composé ne répond à ces exigences, les produits ont été dopés avec un alcane linéaire (nC20) à la concentration de 500

$\mu\text{g.mL}^{-1}$. Avec cette méthode, la quantité de produits prélevés à la surface de l'eau n'a pas pu être déterminée avec précision (présence d'eau). Dans le cas des carburants échantillonnés pendant le test au temps initial (Ti), le calcul des concentrations des composés cibles a été réalisé selon l'Équation B.1.

$$C_{Ci/Ti} = C_{Ci/T0} \times \frac{A_{Ci/Ti}}{A_{Ci/T0}} \times \frac{A_{H/Ti}}{A_{H/T0}}$$

($C_{Ci/Ti}$: concentration du composé cible à Ti ; $C_{Ci/T0}$: concentration du composé cible dans le produit initial ; $A_{Ci/Ti}$: aire du composé cible à Ti ; $A_{Ci/T0}$: aire du composé cible dans le produit initial ; $A_{H/Ti}$: aire du composé de référence à Ti ; $A_{H/T0}$: aire du composé de référence dans le produit initial)

Équation B.1. Calcul des HAP cibles dans la fraction surnageante.

3.1.3 Mesure de la tension superficielle

La tension superficielle est à l'origine de la cohésion d'un liquide. Il s'agit d'une force qui existe à l'interface séparant deux milieux différents et qui résulte des forces intermoléculaires. Dans un liquide, les molécules exercent entre elles des forces d'attraction ou de répulsion, nommée force de Van Der Waals et force électrostatique. Chaque molécule d'eau subit l'attraction de ses voisines proches. La résultante de ces forces est nulle à l'intérieur d'un liquide. Mais à la surface, ces forces de liaisons ont une résultante dirigée vers l'intérieur et la surface se comporte comme si elle était soumise à une pression extérieure. La tension superficielle correspond à une force nécessaire pour maintenir en contact deux zones de surface séparées par une unité de longueur. La tension superficielle empêche donc les molécules de la surface de passer dans l'air, formant à la surface du liquide comme une membrane tendue qui enveloppe le liquide.

Pour minimiser la tension superficielle, l'interface air-liquide s'incurve au contact d'une paroi, pour former un ménisque. La tension superficielle est à l'origine du phénomène de capillarité ; dans un tube capillaire contenant un liquide, le niveau du liquide monte dans la capillaire, d'autant plus la tension superficielle du liquide est élevée. A l'équilibre, le niveau atteint par le liquide est donné par la loi de Jurin :

$$h = \frac{2 \gamma \cos \theta}{\rho g R}$$

Avec : γ , la tension superficielle,

R , le rayon du capillaire

θ , l'angle formé par le ménisque

3.1.3.1 Préparation des milieux

90 mL d'eau ultra-pure sont introduits dans le cristallisateur de mesure. Après l'addition de 30 mg de l'hydrocarbure étudié, le bécher est recouvert d'un verre de montre, et le milieu est laissé 1 minute sous agitation magnétique à vitesse lente. La tension de surface est mesurée toutes les heures en positionnant le cristallisateur sur le support mobile du tensiomètre, en dessous de la lame de platine (Figure B.28).

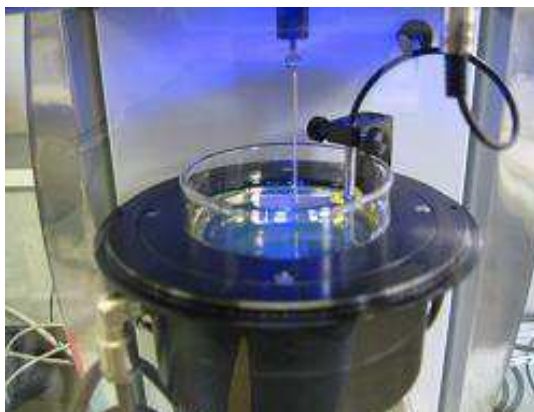


Figure B.28. Dispositif de mesure de la tension superficielle (tensiomètre GBX 3S)

Les courbes cinétiques ont été réalisées deux fois et ont permis de vérifier les évolutions de la tension superficielle avec une erreur inférieure à 2 mN.m^{-1} .

Notons que le naphthalène et le phénanthrène étant solides à température ambiante, leur tension superficielle est mesurée à une température supérieure à leur température de fusion. Ainsi, la tension superficielle du naphthalène est égale à 31.8 mN.m^{-1} à 100°C (Bisson and Houeix 2011). La tension superficielle de l'éthanol présent dans SP95-E10 et E85, est de $22. \text{ mN/m}^{-1}$ à 20°C .

3.1.3.2 Principe de la mesure

La détermination de la tension superficielle est réalisée par la méthode de Wilhelmy à l'aide d'un tensiomètre à lame GBX 3S (Figure B.28). Une lame de platine (dite lame de Wilhelmy) est préalablement nettoyée par exposition à la flamme d'un bec bunsen, puis positionnée sur une balance de Kahn. La lame doit être placée à environ 5 mm de la surface du liquide à mesurer, puis immergée dans le liquide. Cette lame, parfaitement mouillable, est plongée verticalement dans le liquide, et donne lieu à la formation d'un ménisque de liquide à l'interface.

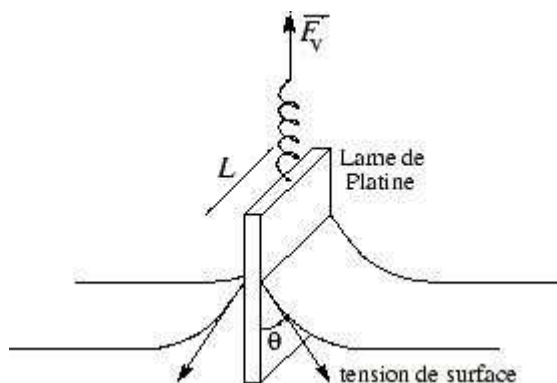
Le capteur détermine alors la force nécessaire pour arracher la lame du liquide (Figure B.29). Cette force f_w exercée par le ménisque sur la plaque est donnée par la relation suivante :

$$f_w = 2 L \gamma \cos \theta$$

avec : θ , l'angle du ménisque avec la lame

γ , la tension superficielle

L , la longueur de la lame en contact avec la surface du liquide

Figure B.29. lame de Wilhelmy ($F_v = F_w$)

3.2 RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

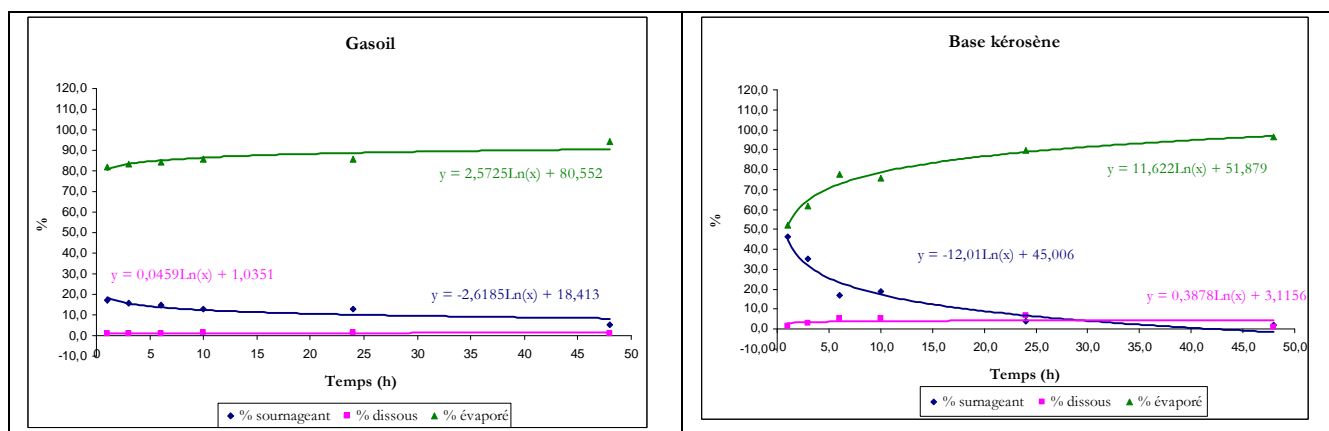
3.2.1 Répartition des HAP dans les différentes phases

Les résultats obtenus pour la somme des 41 HAP analysés et pour les HAP individuels (naphtalènes, phénanthrènes, chrysènes et dibenzothiophènes), indicateurs globaux de dissolution, sont présentés dans les tableaux (Annexe I) en pourcentage des fractions surnageante, dissoute et évaporée.

Seuls les résultats obtenus pour les naphtalènes et la somme des HAP seront discutés : en effet, dans tous les cas, il n'a pas été retrouvé de quantité significative des autres HAP individuels dans la fraction surnageante et dans la fraction dissoute.

3.2.1.1 Essais en laboratoire

Pour les 6 produits (gazole, kérosène, fioul domestique, fioul lourd, SP95-E10 et SP98), la répartition de la somme des HAP et celle de la somme des naphtalènes (naphtalène + naphtalènes dérivés en C1, C2, C3 et C4) dans les 3 milieux (nappes d'eau, d'air et d'hydrocarbure) sont présentées dans la Figure B.30 et la Figure B.31



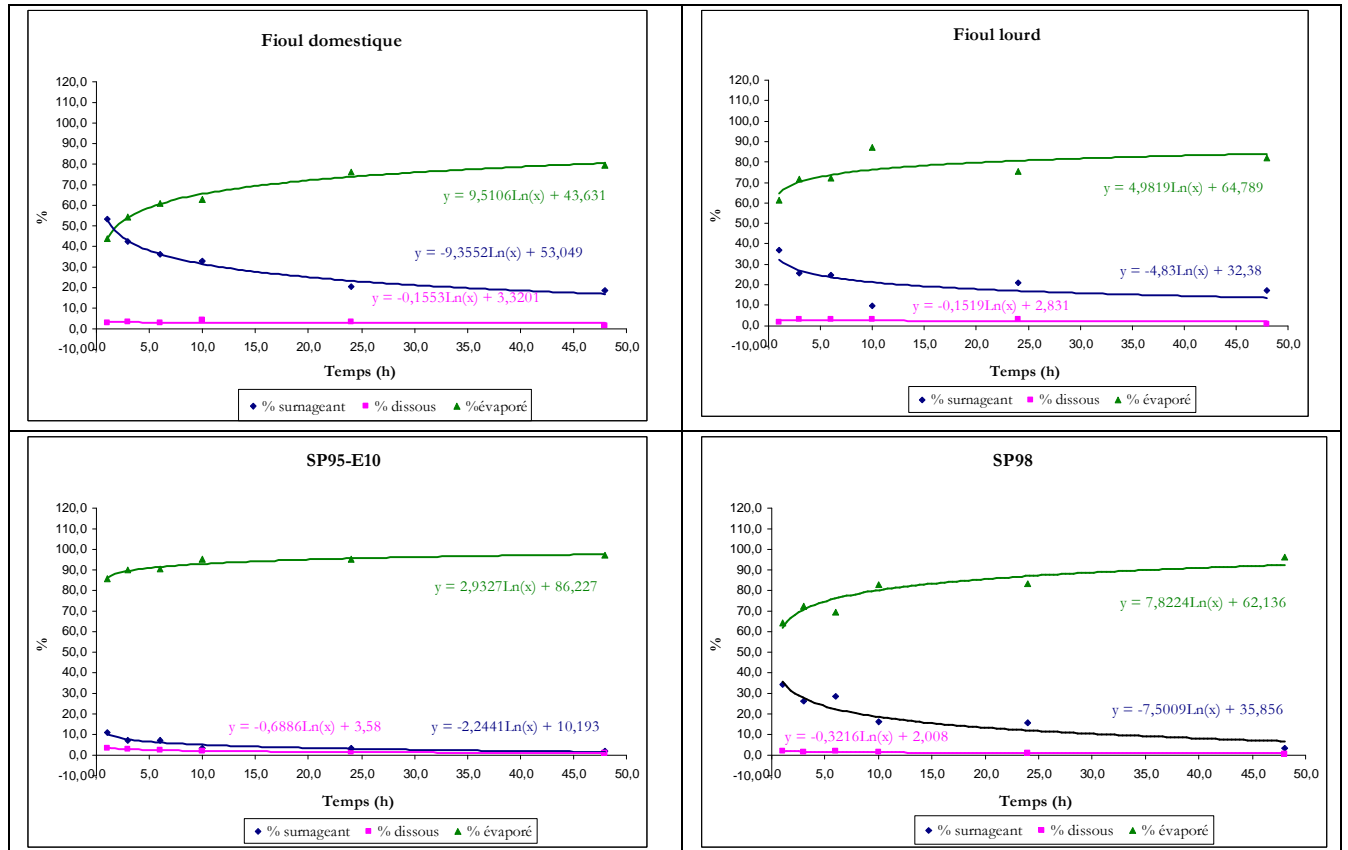
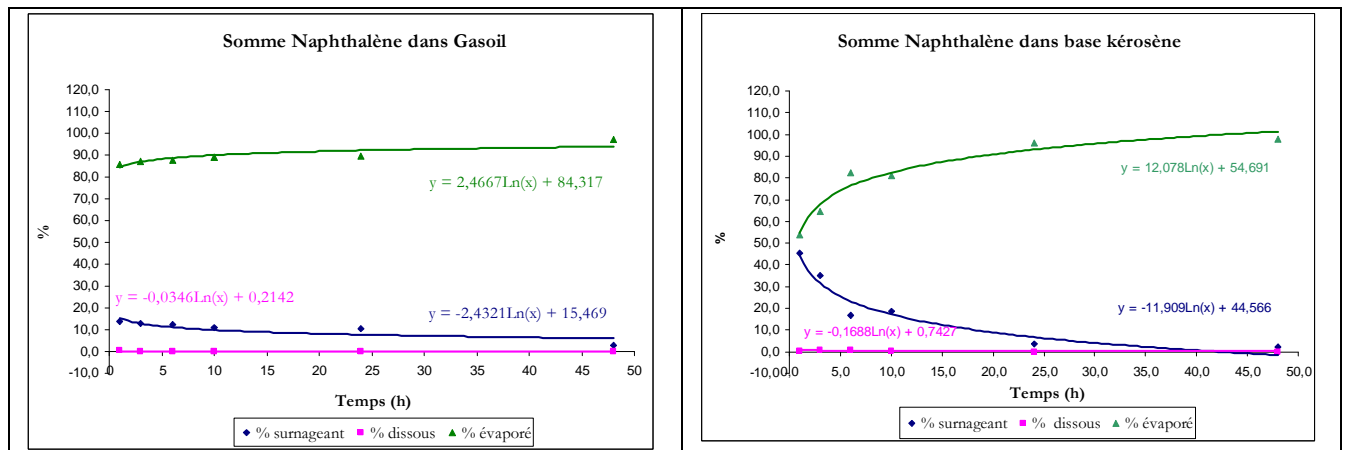


Figure B.30. Distribution des HAP (% dans l'air, % dans l'eau et % dans la nappe) en fonction du temps



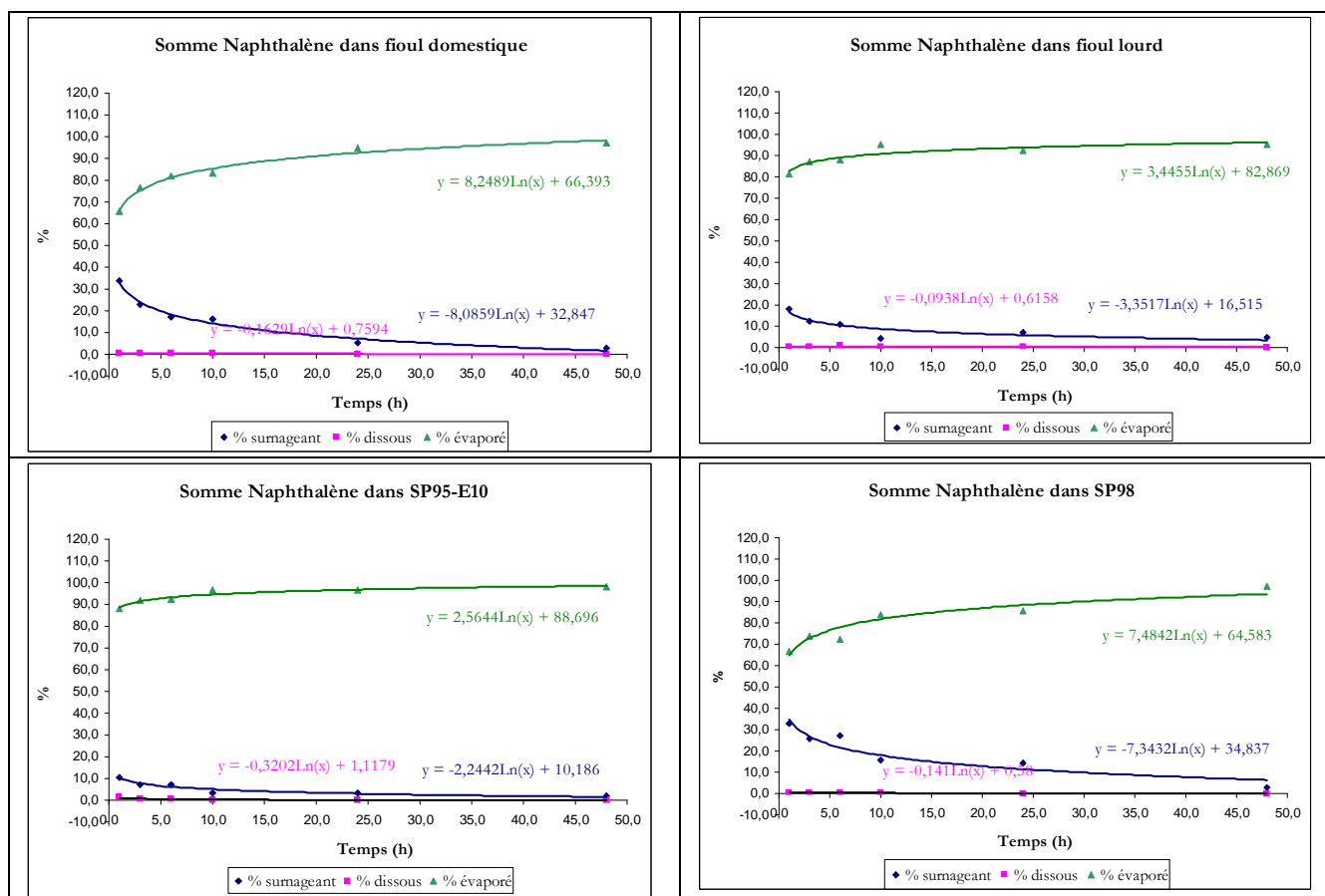


Figure B.31. Distribution des naphthalènes (% dans l'air, % dans l'eau et % dans la nappe) en fonction du temps

Dans tous les cas, les pourcentages de fraction dissoute et de fraction surnageante sont très inférieurs aux pourcentages de fraction évaporée dès le déversement de l'hydrocarbure dans l'eau. La répartition de ces différentes fractions est cependant plus différenciée avec le SP98, le fioul lourd et le kérosène. Là encore, ce sont les naphthalènes qui induisent le comportement général de la somme des HAP dans l'eau.

Trois points essentiels ont été discutés : la volatilisation, la dissolution dans l'eau et l'influence de l'éthanol.

3.2.1.1.1 Volatilisation

Lorsque des produits pétroliers entrent en contact avec l'eau de surface, les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques les plus légers s'étalent à la surface de l'eau et s'évaporent. En général, l'évaporation est le principal mécanisme de perte des composés volatils et semi-volatils pour les produits pétroliers déversés. Comme il est montré dans la Figure B.30, l'évaporation est presque totale dans le cas des essences (SP95-E10 et SP98), du gazole et du kérosène. Ils sont riches en naphthalènes qui se subliment facilement dans l'air et présentent la solubilité dans l'eau la plus élevée. Pour les fiouls lourds et domestiques, il subsiste 20% de la nappe, en particulier pour le fioul domestique, qui contient du phénanthrène et du chrysène, moins volatils et moins solubles que le naphthalène. La répartition entre l'air et l'eau est caractérisée par la constante de Henry (H).

Un H croissant implique une volatilité plus élevée et résulte de la combinaison d'une pression de vapeur élevée et d'une faible solubilité aqueuse (Tableau B.13). Les pertes par volatilisation de la fraction soluble dans l'atmosphère sont également influencées par la solubilité aqueuse des composés.

Tableau B.13. Calcul des HAP cibles dans la fraction surnageant (Mackay et al. 2006)

HAP	Solubilité dans l'eau HAP (mg/L)	Pression de vapeur (mmHg à 25 °C)	Constante de Henry (bar à 298 K)
Naphtalène	32	$8,2 \times 10^{-2}$	23,796
Phenanthrène	1,0	$6,8 \times 10^{-4}$	1,771
Chrysène	0,006	$6,3 \times 10^{-7}$	0,036

3.2.1.1.2 Dissolution dans l'eau et solubilité

L'analyse de la fraction soluble dans l'eau montre que la solubilité dans l'eau des HAP tend à diminuer quand le poids moléculaire augmente. Les HAP linéaires et condensés (par exemple le naphtalène et l'anthracène) ont également tendance à être plus solubles que les structures péricondensées (par exemple le phénanthrène et le pyrène). En outre, la présence de ramifications diminue la solubilité dans l'eau du HAP parent. Les naphtalènes déterminent le comportement des HAP en raison de leur grande solubilité dans l'eau.

3.2.1.1.3 Influence de l'éthanol

L'essence SP95-E10 présente une nappe de surnageant réduite par rapport à l'essence SP98. En effet, l'addition d'éthanol dans l'essence augmente la solubilisation des HAP (Corseuil et al. 2004). La réduction de la nappe est également due à l'augmentation de la volatilité des hydrocarbures qui forment des azéotropes avec l'éthanol (Muzikova et al. 2009). Les deux phénomènes peuvent expliquer la différence de comportement entre les nappes des deux essences, alors que les fractions solubles restent faibles dans les deux cas.

3.2.1.2 **Influence de l'échelle pour le cas du gazole**

Les essais réalisés avec le gazole à différentes échelles (3L, 7200L et polludrome) donnent une idée de l'influence des quantités testées et de l'effet dynamique au cours du temps. Les teneurs en naphtalène et en naphtalènes ramifiés évoluent au cours du temps (Figure B.32 et Figure B.33). Il apparaît des différences significatives : la part de composés persistant au sein de la nappe après 48 heures est pratiquement nulle pour le naphtalène, que les quantités initiales soient de 3L ou de 50L. Cependant, alors qu'elle est encore proche de 50% pour les C₂-naphtalènes dans le cas des contenants de 7200 L au bout de 48h, c'est au bout de 25 h qu'elle atteint son maximum dans le cas des contenants de 3L. Enfin, dans les contenants de 3L, le C₃-naphtalène subsiste dans la phase surnageante pendant presque 25h avant de commencer à décroître.

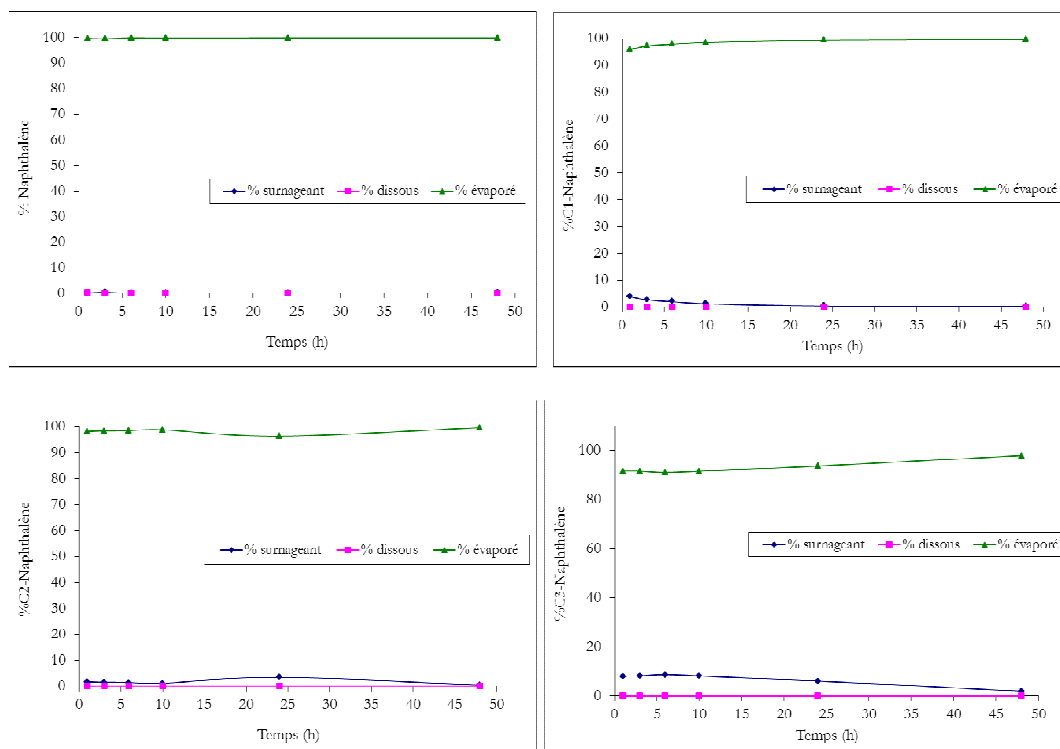
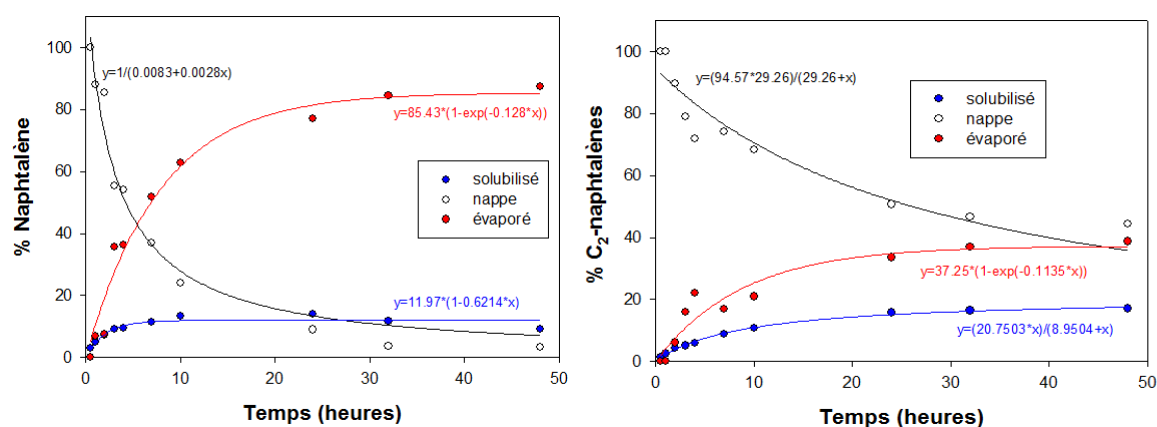


Figure B.32. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et ses dérivés ramifiés (contenants de 3L)

Figure B.33. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et les C₂-naphthalènes (contenants de 7200 L)

Les bilans matières effectués lors de l'essai en polludrome en eau de mer avec 50 mL de gazole montre (Figure B.34) l'évolution de la teneur au sein du surnageant pour le naphthalène et ses différents niveaux de ramifications : Les valeurs minimales atteintes après 24 heures sont plus faibles qu'en laboratoire (Figure B.35), ce qui s'explique par les conditions dynamiques et l'absence de limitation des phénomènes d'évaporation telles qu'envisagée avec les tests de laboratoire.

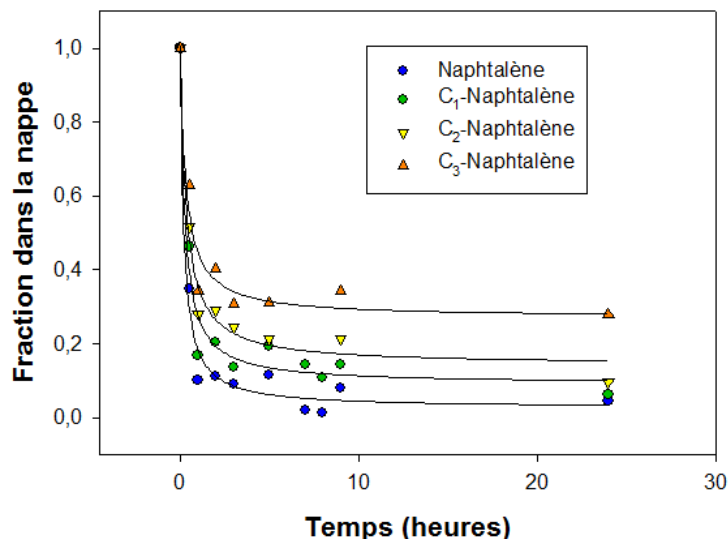


Figure B.34. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et les naphthalènes ramifiés en polludrome

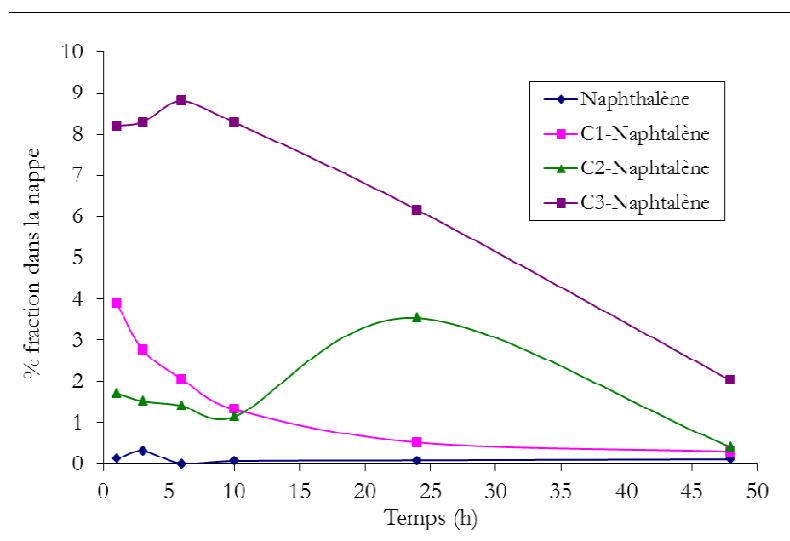


Figure B.35. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et les naphthalènes ramifiés en laboratoire

3.2.2 Evolution de la tension superficielle

Les molécules tensio-actives, les solvo-surfactants et les co-solvants possèdent la propriété d'abaisser la tension superficielle de l'eau à laquelle ils sont ajoutés en proportions variables (Ghahremani et al. 2011). Mais, plus généralement, la solubilisation partielle d'une substance organique, même à très faible concentration, est susceptible d'abaisser la tension superficielle de l'eau pure qui s'élève à 72 mNm^{-1} à 20°C (Kaye and Laby 1995).

Dans un milieu naturel ou biologique, la solubilisation d'une substance organique intervient souvent dans une eau chargée en espèces ioniques. A ce sujet, de nombreux travaux (Whitehouse 1984 ; Xie et al. 1997) font état de l'effet de solubilisation des contaminants organiques en présence d'espèces ioniques dans l'eau qui généralement diminuent leur solubilité dans l'eau.

Certains auteurs ont tenté de corréler la teneur en sel d'une eau contaminée par des hydrocarbures avec sa tension superficielle (Firoozabadi and Ramey 1988).

Pour un milieu aquatique salin, Schlautman et al. ont testé un modèle de prédiction de la solubilité d'une substance organique, modèle basé sur la variation de la tension superficielle entre l'eau salée et l'eau distillée (Schlautman et al. 2004). Ce modèle est appliqué à l'étude de la variation de solubilité des HAP en fonction de la teneur en sels et de leur nature. Il permet de calculer la constante de Schschenow dite constante de relargage (Schwarzenbach et al. 1993) et représente une alternative intéressante aux modèles théoriques complexes.

C'est pourquoi, nous avons cherché à suivre la fraction solubilisée d'hydrocarbures par la mesure de la tension superficielle, avec l'objectif d'établir un lien entre l'évolution de ce paramètre physico-chimique et les équilibres en jeu, suite à un dépôt d'hydrocarbure.

L'influence de six hydrocarbures sur la tension superficielle de l'eau a été étudiée sur une durée de six heures après le dépôt d'hydrocarbures.

La Figure B.36 présente les courbes d'évolution de la tension superficielle. Contrairement aux cinétiques de solubilisation présentant un maximum de solubilité dans les premières heures, l'évolution de la tension superficielle comporte une première phase de croissance suivie d'une seconde phase de stabilisation de la tension superficielle vers une valeur limite.

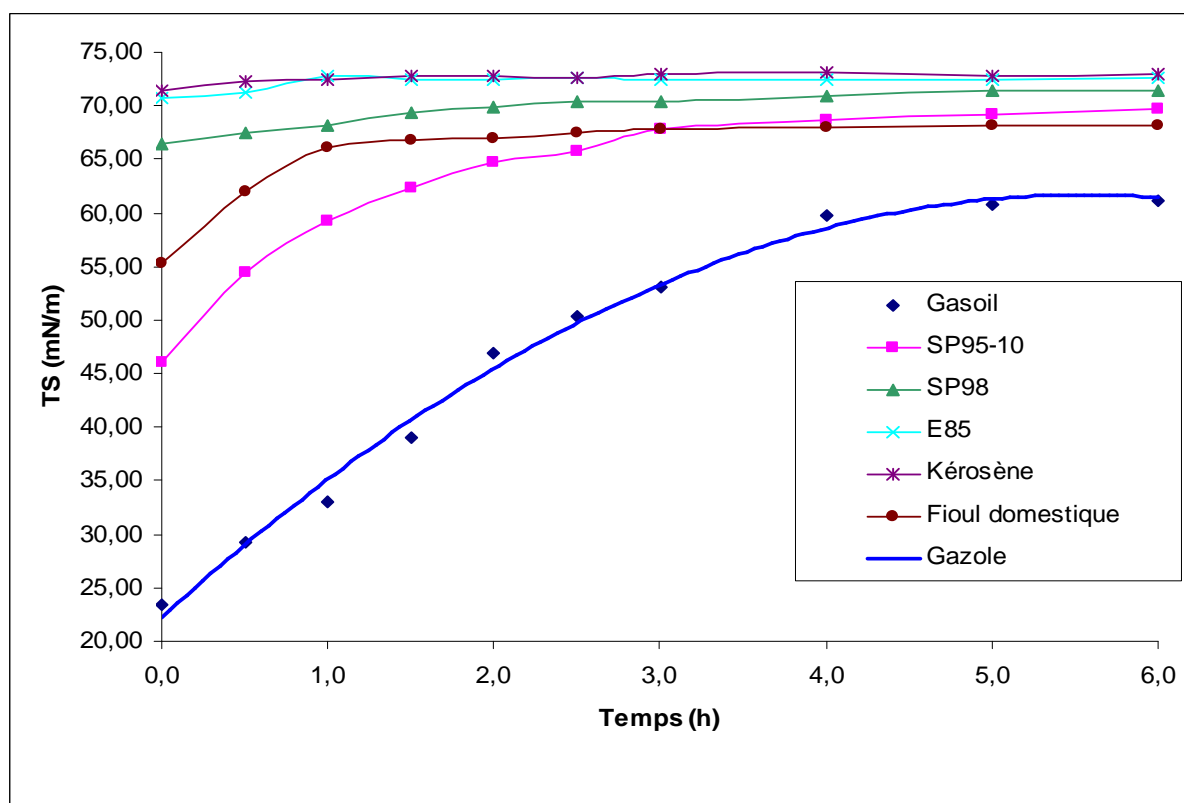


Figure B.36. Evolution de la tension superficielle après dépôt de 30 mg d'hydrocarbure dans 90 ml d'eau (incertitude inférieure à 2 mNm⁻¹)

Le Tableau B.14 rassemble l'amplitude de variation de la tension superficielle (ΔT_s) observée, et la durée nécessaire pour atteindre une valeur seuil proche de la tension superficielle de l'eau.

Tableau B.14. Caractéristiques des courbes de tension superficielle pour les 6 produits étudiés - corrélation avec les fractions HAP évaporées 1 h après le dépôt

	Gazole	Essence SP95-E10	Fioul domestique	Essence SP98	Kérosène	Essence E85
$\Delta T_s \text{ mN m}^{-1}$	35	20	10	5	2	2
Durée (h)	5	4	2	2	1	1
% fraction évaporée (1h)	80	85	43	64	52	-

On observe que la variation de la tension superficielle est la plus forte pour le gazole sur une période de 5 heures. Le SP95-E10 et le fioul domestique génèrent également des variations de tension superficielle significatives. Ces résultats sont en adéquation avec les résultats du plan d'expérience (présentés dans la partie C) avec une similitude de comportement entre ces deux hydrocarbures. Le gazole et fioul lourd ont, quant à eux, montré des profils de distillation similaires. Le SP98, le kérosène et l'E85 n'induisent que de faibles variations de la tension superficielle.

Comme le montre les cinétiques en eau ultra-pure (Figure B.37) pendant les six premières heures qui suivent le dépôt, il n'y a pas de corrélation directe entre la quantité de HAP solubilisés et les valeurs de tensions superficielles

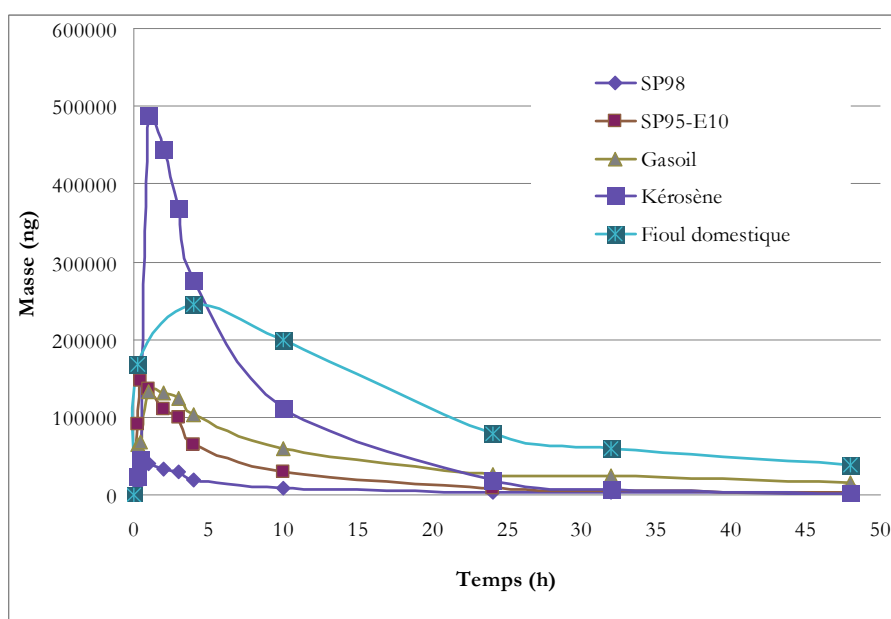


Figure B.37. Comparaison des masses totales solubilisées pour les 5 hydrocarbures étudiés

On observe que la présence d'éthanol à 10% dans l'essence confère à la courbe SP95-E10, un comportement différent de celui de l'essence classique SP98. Des travaux ont déjà montré la réduction de la tension superficielle d'un milieu aqueux au contact d'essence comportant une fraction en éthanol (Powers 1999). Mais, lorsqu'il s'agit du E85, la variation de la tension superficielle devient très faible. En effet, seules certaines compositions peuvent donner lieu à la formation d'un azéotrope hydrocarbure /éthanol.

A ce sujet, nous remarquons que les composés générant une forte variation de tension superficielle (gazole et SP95) sont ceux qui présentent la fraction de HAP dans l'air la plus élevée, une heure après le contact entre l'eau et l'hydrocarbure. Ces deux composés présentent également des fractions en HAP dans la nappe, plus faibles comparées aux autres produits, ce qui leur confère des profils de distribution eau/nappe/air similaires.

Ces profils de distribution ont été déterminés à partir des bilans réalisés sur la répartition des HAP entre le milieu aqueux et la nappe (Partie C, Chapitre I).

Ainsi, l'abaissement de la tension superficielle correspond à une configuration favorable au processus d'évaporation et de volatilisation des molécules.

Par ailleurs, notons qu'un milieu aqueux dont la tension de surface est abaissée, a moins tendance à migrer ou à être transporté par capillarité. Ce comportement peut être perçu comme un avantage car il signifie potentiellement un impact environnemental réduit lors du contact de l'eau avec des sédiments (Moon et al. 2003).

Pour conclure cette étude, nous avons mis en évidence que la cinétique de solubilisation des HAP s'accompagne d'une variation de la tension superficielle pendant les premières heures, pour tendre vers une valeur de tension superficielle proche de celle de l'eau. Cette variation s'opère sur une durée d'autant plus longue que la tension superficielle est initialement plus faible. Cette évolution ne peut pas être corrélée au pic de solubilisation, ce qui signifie que la tension superficielle ne dépend pas directement de la quantité de fraction soluble, mais plutôt de la capacité de l'hydrocarbure à passer dans la phase air.

Ainsi, l'aptitude de l'hydrocarbure à réduire la tension superficielle semble plutôt liée à sa capacité à former un azéotrope avec l'eau ou avec l'éthanol, correspondant à des fractions solubles plutôt riches en phénanthrène (cas du SP95-E10, gazole et fioul domestique).

Soulignons qu'une tension superficielle basse favorise le processus de volatilisation et limite la migration des hydrocarbures par capillarité. Ces deux aspects sont susceptibles de réduire l'impact environnemental d'une pollution. La tension superficielle pourrait donc être considérée comme un indicateur environnemental.

4 CHAPITRE IV. CONCLUSION

Les hydrocarbures étudiés, d'usage commun, ont été caractérisés en termes de densité, viscosité, taux d'évaporation maximale et teneurs en hydrocarbures aromatiques polycycliques. Le fioul domestique, le gazole et le fioul lourd sont les hydrocarbures les plus riches en HAP à l'état initial. Le Bitume est celui dont la concentration en HAP est la plus faible. Les trois essences (SP98, SP95-E10 et E85) contiennent surtout des composés mono-aromatiques et, malgré la présence de 10% d'éthanol, l'essence SP95-E10 contient davantage de HAP que l'essence SP98. Enfin, pour chaque produit, excepté le fioul lourd, on observe que la concentration en HAP totaux est guidée par les composés légers (naphtalènes).

Les cinétiques observées doivent être interprétées comme le résultat de la concurrence entre l'évaporation, la solubilisation et la volatilisation. Les courbes cinétiques montrent une dissolution maximale des HAP, suivie d'une diminution de la fraction dissoute. Ce comportement peut être expliqué par la dissolution combinée avec l'évaporation des HAP de la nappe. Par la suite, la volatilisation partielle des HAP dissous se produit et affecte la partie principale de cette fraction. La cinétique et le maximum de solubilité dépendent de la nature des produits, en particulier la distribution relative des HAP. Les produits les plus solubles, caractérisés par un coefficient de partage octanol-eau plus faible, sont également les plus volatils. Les molécules les plus lourdes comme les phénanthrènes, enrichissent progressivement la fraction soluble, générant un décalage des pics de solubilité dans le temps.

A l'échelle pilote (polludrome), le ratio de surface hydrocarbure/eau agit sur la cinétique de solubilisation : celle-ci varie selon l'épaisseur de la couche d'hydrocarbure et est plus lente à mesure du processus de volatilisation. La comparaison entre les résultats obtenus à l'échelle laboratoire et les résultats obtenus à l'échelle pilote montre clairement que les conditions dynamiques (eau et courant de vent) favorisent le processus d'évaporation des molécules les plus volatiles et retardent le moment de la solubilisation maximale. Le ratio hydrocarbure/eau n'est pas nécessairement représentatif de la capacité de solubilisation de l'hydrocarbure dans le milieu aqueux, compte tenu des limites de solubilité.

L'addition de composés oxygénés miscibles à l'eau, tel que l'éthanol, augmente la solubilité globale des HAP. En fait, avec 10% d'éthanol dans l'essence, la solubilité de la plupart des composés hydrophobes est accrue (composés ayant le plus fort K_{ow} tel que le phénanthrène). Ainsi, pour l'essence oxygénée, la distribution des HAP dissous est différente de celle du SP98, essence classique. SP95-E10 génère une masse solubilisée plus abondante et persistante dans l'eau, comparée aux deux autres essences, masse de l'ordre de grandeur de celle du gazole mais nettement inférieure à celle du kérosène. SP98 et E85 ont des fractions solubles totales plus faibles et comparables, générant probablement un impact environnemental réduit.

Enfin, la cinétique de solubilisation des HAP s'accompagne d'une variation de la tension superficielle pendant les premières heures, pour tendre vers une valeur de tension superficielle proche de celle de l'eau. Cette variation s'opère sur une durée d'autant plus longue que la tension superficielle est initialement plus faible. La tension superficielle ne dépend pas directement de la

quantité de fraction soluble, mais plutôt de la capacité de l'hydrocarbure à passer dans la phase air. L'aptitude de l'hydrocarbure à réduire la tension superficielle liée à sa capacité à former un azéotrope avec l'eau ou avec l'éthanol et une tension superficielle basse, qui favorise le processus de volatilisation et limite la migration des hydrocarbures par capillarité, sont deux aspects susceptibles de réduire l'impact environnemental d'une pollution. La tension superficielle pourrait donc être considérée comme un indicateur environnemental.

Notons que la base de données obtenue au cours de ce travail est en cours d'utilisation pour le développement de logiciels de modélisation.

5 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR ISO 3016 (1994). "Produits pétroliers. Détermination du point d'écoulement."
- AFNOR NF EN ISO 3838 (2008). "Pétrole brut et produits pétroliers liquides ou solides - Détermination de la masse volumique ou de la densité - Méthodes du pycnomètre à bouchon capillaire et du pycnomètre bicapillaire gradué."
- ASTM D3710 (2009). "Standard Test Method for Boiling Range Distribution of Gasoline and Gasoline Fractions by Gas Chromatography." ASTM D3710-09
- ASTM D70 (2009). "Standard Test Method for Specific Gravity and Density of Semi-Solid Bituminous Materials (Pycnometer Method)." ASTM D70-09e1
- ASTM D86 (2009). "Standard Test Method for Distillation of Petroleum Products at Atmospheric Pressure. ." ASTM D86-09e1: 27.
- ASTM D97 (2009). "Standard Test Method for Pour Point of Petroleum Products. ." ASTM D97-09: 10.
- Bisson M. and Houeix N. (2011). "Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques ; Naphthalène." INERIS: 11.
- Corseuil, H.X., Kaipper B.I., et al. (2004). "Cosolvency effect in subsurface systems contaminated with petroleum hydrocarbons and ethanol." *Water Research* 38(6): 1449-1456.
- Daling P.S., Aamo O.M., et al. (1997). "SINTEF/IKU Oil-Weathering Model : Prediocting Oils'Properties at Sea." International oil spill conference 1997, Norway.
- Faksness, L.G., Brandvik P.J., et al. (2008). "Composition of the water accommodated fractions as a function of exposure times and temperatures." *Marine Pollution Bulletin* 56 (10): 1746-1754.
- Firoozabadiand A. and Ramey H.J. (1988). "Surface tension of water-hydrocarbon systems at reservoir conditions." *The Journal of Canadian Petroleum Technology* 27(3): 3.
- Guyomarch J. and Van Ganse S. (2010). "Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Seawater following an Experimental Oil Spill by Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) and Thermal Desorption GC -MS." *Proceeding of the 33 rd AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada: 181-187.
- Ghahremani H., Moradi A., et al. (2011). "Measuring surface tension of binary mixtures of water + alcohols from the diffraction pattern of surface ripples " *Der Chemica Sinica* 2(6): 212.
- Kaye and Laby, Eds. (1995). *Tables of Physical & Chemical Constants*.
- Mackay D., Shiu W.Y., et al. (2006). *Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals*. Boca Raton.
- Moon J.W., Goltz M.N., et al. (2003). "Dissolved organic matter effects on the performance of a barrier to polycyclic aromatic hydrocarbon transport by groundwater." *Journal of Contaminant Hydrology* 60(3-4): 307-326.
- Muzikova Z., Pospisil M., et al. (2009). "Volatility and phase stability of petrol blends with ethanol." *Fuel* 88(8): 1351-1356.
- Powers S. E. and Heermann S.E. (1999) "Potential Ground and Surface Water Impacts, A Critical Review: The Effect of Ethanol in Gasoline on the Fate and Transport of BTEX in the Subsurface.", Department of Civil and Environmental Engineering, Clarkson University, NY 4(12).
- Schlautman M. A., Yim S., et al. (2004). "Testing a surface tension-based model to predict the salting out of polycyclic aromatic hydrocarbons in model environmental solutions." *Water Research* 38(13-14): 3331.

- Schwarzenbach R. P., Gschwend P.M., et al. (1993). *Environmental Organic Chemistry*. New York.
- Singer, M. M., Aurand D., et al. (2000). "Standardization of the Preparation and Quantitation of Water-accommodated Fractions of Petroleum for Toxicity Testing." *Marine Pollution Bulletin* 40(11): 1007-1016.
- Stiver W. and MacKay D. (1984). "Evaporation Rate of Spills of Hydrocarbons and Petroleum Mixtures." *Environmental Science & Technology* 18(11): 834-840.
- Whitehouse, B. G. (1984). "The effects of temperature and salinity on the aqueous solubility of polynuclear aromatic hydrocarbons." *Marine Chemistry* 14(3): 19.
- Xie W.H., Shiu W.Y. et al. (1997). "A review of the effect of salts on the solubility of organic compounds in seawater." *Marine Environmental Research* 44(4): 429-444

6 LISTE DES FIGURES

Figure B.1. Courbes de distillations des produits pétroliers testés.....	44
Figure B.2. Teneur en HAP des produits pétroliers testés.....	45
Figure B.3. Teneurs en HAP des produits oxygènes	46
Figure B.4. Teneurs en HAP individuel exprimées en μg de HAP par g d'hydrocarbure brut.	46
Figure B.5. Teneurs en HAP individuel exprimées en μg de HAP par g de produit oxygène brut.....	47
Figure B.6. Protocole expérimentale de SBSE.....	49
Figure B.7. Chromatogrammes (HRGC-MS analyses en SIM mode) du bitume brut et de la fraction soluble après 24h de mise en contact	54
Figure B.8. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Gazole.	55
Figure B.9. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de SP98.	55
Figure B.10. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de SP95-E10.	56
Figure B.11. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Fioul lourd.	56
Figure B.12. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Kérosène.	56
Figure B.13. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de Fioul domestique.	57
Figure B.14. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt d'E85... ..	57
Figure B.15. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau après dépôt de bitume.	57
Figure B.16. Maximum de solubilité des hydrocarbures	59
Figure B.17. Corrélations entre le temps du maximum de solubilisation et la distribution relative entre composés légers et lourds.	59
Figure B.18. Pourcentage de solubilisation des sommes des HAP pour trois essences	62
Figure B.19. Comparaison des masses solubilisées	62
Figure B.20. Schéma du polludrome	65
Figure B.21. Nappe d'hydrocarbures à la surface du polludrome.....	65
Figure B.22. Lissage des cinétiques de dissolution des produits pétroliers testés.....	66
Figure B.23. Concentration en HAP totaux à l'échelle laboratoire et en polludrome pour un dépôt de gazole de 50mL.....	67
Figure B.24. Influence du ratio sur la cinétique de solubilisation du gazole en polludrome.....	68
Figure B.25. Influence de la salinité sur la cinétique de solubilisation (dépôt 50mL) du gazole en polludrome	69
Figure B.26. Bilans matières à l'échelle du laboratoire.....	71
Figure B.27. Nappe de fioul lourd	71
Figure B.28. Dispositif de mesure de la tension superficielle (tensiomètre GBX 3S).....	74
Figure B.29. Lame de Wilhelmy ($F_v = F_w$).....	75

Figure B.30. Distribution des HAP (% dans l'air, % dans l'eau et % dans la nappe) en fonction du temps	76
Figure B.31. Distribution des naphthalènes (% dans l'air, % dans l'eau et % dans la nappe) en fonction du temps	77
Figure B.32. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et ses dérivés ramifiés (contenants de 3L).....	79
Figure B.33. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et les C2-naphthalènes (contenants de 7200 L)	79
Figure B.34. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et les naphthalènes ramifiés en polludrome	80
Figure B.35. Bilans matières obtenus pour le naphthalène et les naphthalènes ramifiés en laboratoire	80
Figure B.36. Evolution de la tension superficielle après dépôt de 30 mg d'hydrocarbure dans 90 ml d'eau (incertitude inférieure à 2 mNm ⁻¹)	81
Figure B.37. Comparaison des masses totales solubilisées pour les 5 hydrocarbures étudiées.....	82

7 LISTE DES TABLEAUX

Tableau B.1. Hydrocarbures étudiés.....	41
Tableau B.2. Description des hydrocarbures étudiés et de leurs propriétés physico-chimiques principales.....	43
Tableau B.3. Taux d'évaporation maximale des produits pétroliers testés	44
Tableau B.4. Temps de prélèvement des essais cinétiques.....	48
Tableau B.5. Liste des composés analysés	50
Tableau B.6. Volumes nécessaires à la préparation des solutions de calibration.....	51
Tableau B.7. Conditions de désorption thermique.....	52
Tableau B.8. Conditions de condensation et injection	52
Tableau B.9. Programmation de température	52
Tableau B.10. Groupes SIM (Single Ion Monitoring)	52
Tableau B.11. Pourcentage (%) de solubilisation des HAP dans l'eau pour le SP98, le SP95-E10 et E85	61
Tableau B.12. Temps de prélèvement.....	64
Tableau B.13. Calcul des HAP cibles dans la fraction surnageant (Mackay et al. 2006).....	78
Tableau B.14. Caractéristiques des courbes de tension superficielle pour les 6 produits étudiés - corrélation avec les fractions HAP évaporées 1 h après le dépôt	82

PARTIE C.

INFLUENCE DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX

SOMMAIRE DE LA PARTIE C

INFLUENCE DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX.....	91
CHAPITRE I. ÉTUDE DE LA SOLUBILISATION DES HYDROCARBURES EN FONCTION DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX	95
1.1 Matériel et méthodes	95
1.1.1 Prélèvements des eaux de Garonne.....	95
1.1.2 Caractérisation des matières en suspension.....	95
1.1.3 Collecte des matières en suspension.....	96
1.1.4 Paramètres du plan d'expériences	96
1.1.5 Plan d'expériences par la méthode de Taguchi.....	97
1.1.6 Conditions expérimentales des essais du plan d'expérience.....	99
1.2 Résultats et interprétation	99
1.2.1 Caractérisation des matières en suspension.....	99
1.2.2 Traitement mathématique	100
1.2.3 Influence des paramètres environnementaux.....	100
2 CHAPITRE II. ÉTUDE DU COMPORTEMENT DES HYDROCARBURES EN EAU CONTINENTALE	107
2.1 Matériel et méthodes	107
2.1.1 Analyses physico-chimiques de l'eau	107
2.1.2 Cinétique en eau de Garonne	108
2.2 Résultats et discussions.....	109
2.2.1 Qualité physico-chimique de l'eau	109
2.2.2 Comportement des hydrocarbures	110
2.2.3 Répartition temporelle des HAP	111
2.2.4 Comparaison de la solubilisation des HAP dans l'eau « ultra-pure » et l'eau naturelle	112
3 CHAPITRE III. INFLUENCE D'UN AJOUT D'HYDROCARBURES SUR LA FLORE BACTERIENNE D'UNE EAU CONTINENTALE.....	114
3.1 Matériel et méthodes	121
3.1.1 Prélèvements des eaux de Garonne.....	121
3.1.2 Hydrocarbures	121
3.1.3 Conditions expérimentales.....	121
3.1.4 Dénombrement des bactéries par étalement sur milieu solide	121
3.1.5 Quantification de l'ATP	123
3.2 Résultats et interprétation	125
3.2.1 Dénombrement après culture sur gélose nutritive des bactéries hétérotrophes	125
3.2.2 Evolution de la quantité d'ATP libre dans le milieu après ajout des hydrocarbures.....	130

4	CHAPITRE IV. CONCLUSION	135
5	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	137
6	TITRE DES FIGURES	139
7	TITRE DES TABLEAUX.....	140

CHAPITRE I. ÉTUDE DE LA SOLUBILISATION DES HYDROCARBURES EN FONCTION DES PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX

Ce travail a pour objectif de déterminer les paramètres environnementaux influant sur la fraction soluble. Pour cela, un plan d'expérience selon la méthode Taguchi a été réalisé pour identifier les paramètres les plus significatifs. Ces travaux ont nécessité la récupération et la caractérisation des matières en suspension (MES), la quantité de MES étant un des paramètres pris en compte.

Afin de se rapprocher des conditions des eaux continentales, des cinétiques de solubilisation ont été réalisées en eau naturelle (eau de Garonne). Cette étude permet d'approfondir l'influence des matières en suspension (MES) et d'extrapoler les résultats à un milieu naturel.

1.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1.1 Prélèvements des eaux de Garonne

Les prélèvements suivants ont été réalisés dans la Garonne au mois de mai 2012:

- Eau chargée en MES prélevée au bord (présence possible de sédiments) au niveau de l'aviron toulousain (MES AT) (environ 46L) ;
- Eau chargée en MES prélevée en plein courant au niveau de l'aviron universitaire (MES AU) (environ 120L) ;
- Dépôt de MES présent sur les bords (secs) de la Garonne (présence de sédiments) prélevé sur les berges au niveau de l'aviron toulousain (MES BORD AT) (environ 2L).

Les MES utilisées en priorité sont celle prélevées en plein courant au niveau de l'aviron universitaire. Cependant, le taux de matières en suspension étant relativement faible au moment du prélèvement, les 120 Litres prélevés ne permettaient pas d'obtenir les 20g de MES sèches nécessaires à l'ensemble des essais. Après caractérisation, les autres prélèvements ont été ajoutés aux MES AU pour obtenir une quantité de MES suffisante pour la totalité des essais prévus.

1.1.2 Caractérisation des matières en suspension

Afin de maîtriser les paramètres introduits dans les différents types d'eau du plan d'expériences, les MES des trois types de prélèvements ont été caractérisées par diffraction de rayons X et par analyse thermogravimétrique. Une analyse du taux de matière organique contenu dans les MES a aussi été réalisée (Matières Volatiles en Suspension). Pour cela, la méthode mise en œuvre pour isoler les particules est la filtration sur fibres de verre, avec une porosité de 0,7 μ m.

Protocole de conditionnement : Après lavage des filtres sur Büchner avec 100mL d'eau distillée, ils sont placés dans leur creuset à l'étuve à 105°C pendant 2h.

Les filtres sont placés dans un dessiccateur jusqu'à masse constante, environ 30 minutes. Les creusets en porcelaine contenant les filtres conditionnés sont pesés à 0,1 mg près (masse creuset + filtre = m_0).

Protocole de Filtration / Calcination : Un volume V de l'échantillon à analyser est filtré (entre 500 mL et 1 L selon la charge en particules). Les filtres contenus dans leur creuset sont mis à l'étuve à 105°C pendant 2h. et laissés refroidir pendant 30 minutes au dessiccateur. Les creusets en porcelaine contenant les filtres et les MES sont pesés à 0,1 mg près (masse creuset + filtre + MES = m_1). Les creusets en porcelaine contenant un filtre avec les MES sont mis au four à 525°C pendant 1h30, puis remis à température ambiante pendant 30 à 40 minutes au dessiccateur. Seule la matière minérale (MM) présente dans les MES reste alors sur les filtres. Les creusets en porcelaine avec le filtre sont pesés à 0,1 mg près, jusqu'à obtenir une masse constante (masse creuset + filtre + MM = m_2).

Les calculs relatifs aux quantités de MES ont été réalisés selon les équations suivantes :

$$\text{Matières en suspension : } MES = \frac{m_1 - m_0}{V} \text{ (mg/L)}$$

$$\text{Matières minérales : } MM = \frac{m_2 - m_0}{V} \text{ (mg/L)}$$

$$\text{Matières organiques : } MO = MES - MM = \frac{m_1 - m_0}{V} - \frac{m_2 - m_0}{V} = \frac{m_1 - m_2}{V} \text{ (mg/L)}$$

$$\text{Matières volatiles en suspension : } MVS = \frac{MES - MM}{MES} = \frac{MO}{MES} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \text{ (\%MES)}$$

1.1.3 Collecte des matières en suspension

Après la caractérisation des matières en suspension, il a été nécessaire de récupérer celles-ci afin de les sécher et de les introduire en quantités connues pour les essais selon le plan d'expériences. Pour collecter les matières en suspension dans les eaux de Garonne, nous avons choisi d'évaporer l'eau, pour obtenir de petits volumes très chargés en matières en suspension qui ont ensuite été placés à l'étuve à 105°C. Pour environ 90 litres traités, 8,73 g de MES ont été récupérés. Une partie de ces MES a été utilisée pour les caractérisations en diffraction des RX et en analyse thermogravimétrique.

Un mélange de 7,80 g de ces matières en suspension a été réalisé avec 17,16 g de dépôt de MES provenant des berges de l'aviron toulousain et préalablement séché à l'étuve. Le mélange homogène de 24,96 g permet de couvrir l'ensemble des essais prévus dans le projet.

1.1.4 Paramètres du plan d'expériences

Les paramètres variables choisis sont ceux qui peuvent avoir une influence sur la fraction soluble des hydrocarbures, à savoir, la température du milieu, la salinité de l'eau, le taux de matière en suspension dans l'eau et le ratio de surface libre occupée par le produit. Les paramètres variables

sont ainsi au nombre de 4, outre le type d'hydrocarbure qui est une variable discrète. Il a été choisi de faire varier chacun de ces paramètres sur trois niveaux, afin que le plan d'expériences soit représentatif des conditions physico-chimiques du milieu récepteur (eaux douces et eaux salées) au cours des saisons. Les niveaux choisis sont les suivants :

- Température : 5°C, 17°C, 28°C
- Salinité : 0g/L, 10g/L, 35g/L
- Taux de matière en suspension (MES) : 0mg/L, 300mg/L, 1000mg/L
- Ratio produit/eau : 10%, 25%, 50%

1.1.5 Plan d'expériences par la méthode de Taguchi

Le nombre de paramètres variables étudiés (4) mènerait à réaliser un nombre considérable d'expériences pour couvrir l'ensemble des combinaisons des niveaux des paramètres possibles ($3^4 = 81$ expériences par produit pétrolier étudié, soit $81 \times 8 = 648$ expériences). Une méthodologie par plan d'expériences a donc été adoptée, afin d'apporter une réponse la plus complète possible tout en restant dans les limites de faisabilité en matière de temps comme de coût. La méthodologie choisie est celle de Taguchi. Il s'agit d'une méthode de criblage pour identifier les paramètres significatifs et leur influence sur la réponse étudiée (fraction hydrosoluble). Elle permet de réduire de façon importante le nombre d'essais tout en gardant une réponse significative.

Chaque hydrocarbure nécessite de réaliser un plan d'expériences indépendant. Si l'on considère chaque paramètre et que l'on néglige les interactions entre ceux-ci, le modèle s'écrit symboliquement de la façon suivante :

$$R = \ell + F_{\text{température}} + F_{\text{salinité}} + F_{\text{MES}} + F_{\text{ratio}} \quad \text{avec} \quad \begin{cases} R : \text{Réponse (fraction soluble)} \\ \ell : \text{Terme constant du modèle linéaire} \\ F_i : \text{Facteurs (température, salinité, MES, ratio)} \end{cases}$$

Les termes F_i représentent symboliquement le produit de la valeur de l'observable au point étudié par le coefficient qui lui est associé. Une fois l'ensemble des essais réalisés, les coefficients sont déterminés et il est alors possible de faire apparaître d'éventuelles corrélations entre les différents facteurs.

Le degré du modèle ainsi posé est calculé de la façon suivante :

$$\begin{aligned} d_M &= (n_{\text{température}} - 1) + (n_{\text{salinité}} - 1) + (n_{\text{MES}} - 1) + (n_{\text{ratio}} - 1) \\ d_M &= (3 - 1) + (3 - 1) + (3 - 1) + (3 - 1) = 8 \end{aligned} \quad \text{avec} \quad \begin{cases} d_M : \text{Degré du modèle} \\ n_i : \text{Nombre de niveaux du facteur } i \end{cases}$$

Afin de déterminer les dimensions de la table de Taguchi à choisir, il est ensuite nécessaire de calculer le plus petit commun multiple (PPCM) des couples d'éléments du modèle (**Erreur ! Référence non valide pour un signet.** Tableau C.1).

Tableau C.1. Dimension de la table de Taguchi

Couple d'éléments du modèle	Produit de leurs niveaux
$F_{température} F_{salinité}$	$3 \times 3 = 9$
$F_{température} F_{MES}$	$3 \times 3 = 9$
$F_{température} F_{ratio}$	$3 \times 3 = 9$
$F_{salinité} F_{MES}$	$3 \times 3 = 9$
$F_{salinité} F_{ratio}$	$3 \times 3 = 9$
$F_{MES} F_{ratio}$	$3 \times 3 = 9$
PPCM	9

Ainsi, le nombre de lignes de la table de Taguchi à utiliser est :

$$\begin{matrix} T = 9k \\ T \geq d_M = 8 \end{matrix} \quad \text{soit} \quad k = 1 \Rightarrow T = 9 \quad \text{avec} \quad \begin{cases} T: \text{Nombre de lignes de la table de Taguchi} \\ k: \text{Constante, entier naturel} \end{cases}$$

La table de Taguchi de 9 lignes dont le nombre de colonnes est supérieur ou égal à 4 (nombre de facteurs) est la table L9(3⁴). La première colonne est attribuée au facteur « Température », car il est le facteur le plus difficile à faire varier lors des expériences. Le nombre de changements de niveaux de ce facteur est ainsi minimisé. Les autres facteurs sont placés de manière arbitraire car aucun ne présente davantage de difficulté à être mis en œuvre que les deux autres. La table de Taguchi correspondant au plan d'expériences pour chaque hydrocarbure est présentée sur le Tableau C.2. Les essais seront réalisés dans un ordre chronologique selon leur présentation dans l'annexe II.

Tableau C.2. Plan d'expériences

Numéro	Température	Salinité	Taux de MES	Ratio
1	5°C	0	0	10%
2	5°C	10g/L	300mg/L	25%
3	5°C	35g/L	1000mg/L	50%
4	17°C	0	300mg/L	50%
5	17°C	10g/L	1000mg/L	10%
6	17°C	35g/L	0	25%
7	28°C	0	1000mg/L	25%
8	28°C	10g/L	0	50%
9	28°C	35g/L	300mg/L	10%

1.1.6 Conditions expérimentales des essais du plan d'expérience

Les expériences sont réalisées pour chaque produit pétrolier fourni par Total. Les huit hydrocarbures ont été préparés dans l'eau comme lors des essais de cinétique (Partie B). Les eaux modèles sont préparées à partir d'eau « ultra-pure » à laquelle on ajoute des MES issues de prélèvements en Garonne et des sels d'aquariophilie « Instant Ocean » aux niveaux souhaités. La mise en contact des hydrocarbures avec les eaux s'effectue dans un bécher de 250mL muni d'un barreau aimanté par essai. On y introduit ensuite 150g du type d'eau souhaité puis 15mg (25 mg ou 50 mg) d'hydrocarbures pour obtenir des ratios de surface occupée par l'hydrocarbure respectivement de 10% (25% ou 50%). On agite ensuite lentement, sans vortex et à l'obscurité.

Lors de tous les essais, un blanc est associé à chaque type d'eau. Il s'agit d'un bécher dans lequel on ne dépose pas d'hydrocarbure mais qui, pour le reste, suit le même protocole expérimental et analytique que ceux des essais. Cela permet, lors de l'interprétation des données, de soustraire le bruit de fond dû au type d'eau étudié.

1.2 RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

1.2.1 Caractérisation des matières en suspension

La mesure des matières volatiles en suspension permet de conclure que les matières en suspension prélevées à l'aviron universitaire et à l'aviron toulousain présentent des proportions proches entre la partie minérale et la partie organique (Tableau C.3). L'analyse RX des MES issues des trois prélèvements montre que les MES sont principalement composées de silice et de calcite. Seuls des composés mineurs varient d'un prélèvement à l'autre. Les spectres RX figurent en annexe III.

Tableau C.3. Récapitulatif des pesées et calculs des MES

	Echantillon	m_0	Volume	m_1	m_2	MES	MM	MO	MVS
		(g)	(mL)	(g)	(g)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(%MES)
1	MES AT	104,4	635	105,4	105,3	1151,5	1328,5	183,0	12,1
2	MES AT	97,1	535	98,1	98,0	1818,1	1564,3	253,8	14,0
3	MES AT	103,4	565	104,6	104,5	2044,4	1846,5	197,9	9,7
4	MES AU	106,3	600	106,4	106,4	136,2	118,2	18,0	13,2
5	MES AU	111,0	630	111,1	111,8	137,1	118,9	18,3	13,3
6	MES AU	106,8	600	106,9	106,8	141,5	124,7	16,8	11,9
	MES BORD	110,8		113,3	113,0	-	2138,2	292,6	13,6

Echantillon	Moyenne MES	Ecart-type	Moyenne MVS	Ecart-type
MES AT	1791,4	267,5	11,9%	2,1%
MES AU	138,3	2,8	12,8%	0,8%

1.2.2 Traitement mathématique

Les expérimentations par plan d'expériences ont permis d'identifier les paramètres influant sur la réponse (soit la solubilisation des hydrocarbures dans l'eau) et de déduire ceux dont on peut s'affranchir. Ce plan à 4 paramètres (Température, Ratio, Taux de MES, Salinité) sur 3 niveaux (1, 2, 3) est représenté par une équation de la forme :

$$R = a_0 + a_1 \cdot \text{Température} + a_2 \cdot \text{Ratio} + a_3 \cdot \text{Taux de MES} + a_4 \cdot \text{Salinité}$$

Avec a_1 le coefficient associé au paramètre « Température », a_2 le coefficient associé au paramètre « Ratio », a_3 le coefficient associé au paramètre « Matières en Suspension » et a_4 le coefficient associé au paramètre « Salinité ».

Un calcul matriciel des coefficients du modèle est réalisé pour la somme des 41 composés et pour chacun des 41 HAP individuels et ce, par produit. L'interprétation des résultats consiste à examiner les 4 coefficients d'impacts (a_1 , a_2 , a_3 , a_4). Un coefficient inférieur à zéro indique qu'il faut mettre la variable au minimum pour minimiser l'impact.

1.2.3 Influence des paramètres environnementaux

Les Figures C.1 à C.5 présentent les résultats du plan d'expériences avec les valeurs des coefficients qui permettent d'évaluer les paramètres significatifs et les paramètres négligeables. Comme précédemment, il est clair que la somme des HAP est tirée par les composés légers (notamment les naphthalènes dérivés). De plus, quel que soit le produit testé, une baisse de la température (température la plus basse 5°C) minimise la solubilisation des HAP dans l'eau. De la même manière, un ratio de couverture élevé maximise le passage en phase aqueuse des HAP.

La Figure C.1 présente les résultats pour la base kérosène. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F1 au niveau +1, ce qui signifie que le maximum de solubilisation des HAP est atteint avec 28°C de température. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F2 au niveau +1 : le maximum de solubilisation est donc atteint avec un ratio de couverture 50%. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F3 au niveau -1 : le maximum de solubilisation des HAP est donc atteint avec un taux de MES de 1000 g/L. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F4 au niveau -1 soit un maximum de solubilisation des HAP atteint avec une salinité de 0 g/L.

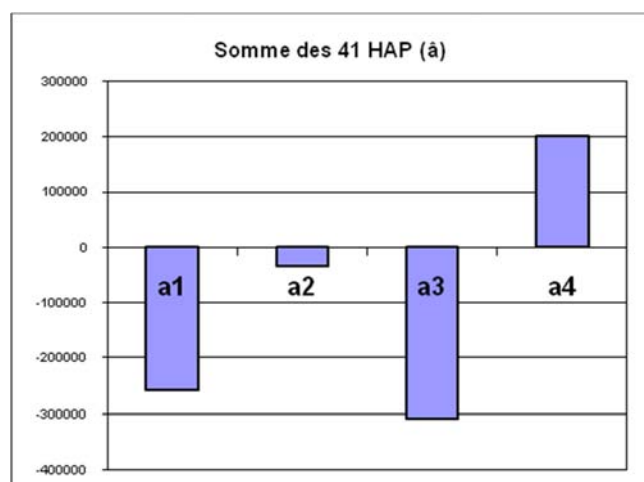


Figure C.1. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : Base kérosène

La Figure C.2 présente les résultats pour le gazole. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F1 au niveau +1, ce qui signifie que le maximum de solubilisation des HAP est atteint avec 28°C de température. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F2 au niveau -1 ce qui signifie que le maximum de solubilisation des HAP est atteint avec un ratio de couverture 10%. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F3 au niveau -1 : le maximum de solubilisation des HAP est donc atteint avec un taux de MES de 1000 g/L. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F4 au niveau +1 : le maximum de solubilisation des HAP est donc atteint avec une salinité de 10 g/L.

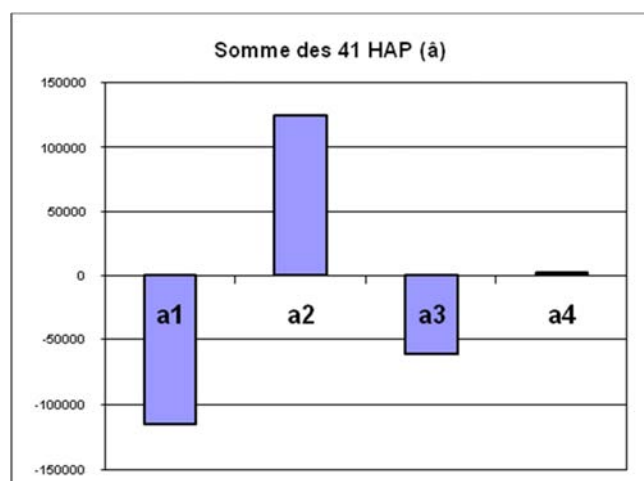


Figure C.2. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : Gazole

La Figure C.3 présente les résultats pour le fioul domestique. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F1 au niveau +1, (maximum de solubilisation des HAP atteint avec 28°C de température). La réponse maximale est atteinte avec le facteur F2 au niveau -1 (maximum de solubilisation des HAP atteint avec un ratio de couverture 10%). La réponse maximale est atteinte avec le facteur F3 au niveau -1 (maximum de solubilisation des HAP atteint avec un taux

de MES de 0 g/L). La réponse maximale est atteinte avec le facteur F4 au niveau +1 (maximum de solubilisation des HAP atteint avec une salinité de 35 g/L.)

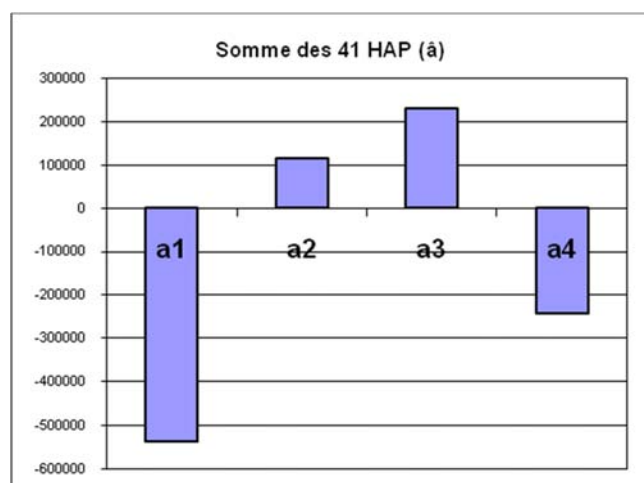


Figure C.3. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : Fioul domestique

La Figure C.4 présente les résultats des coefficients pour le SP95-E10 et l'E85. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F1 au niveau +1 : le maximum de solubilisation des HAP est atteint avec 28°C de température. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F2 au niveau -1 ce qui signifie que le maximum de solubilisation des HAP est atteint avec un ratio de couverture 10%. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F4 au niveau 0 : le maximum de solubilisation des HAP est donc atteint avec une salinité de 100 g/L. Pour le facteur F3, la réponse maximale du SP95-E10 est atteinte avec le facteur F3 au niveau -1 (soit un maximum de solubilisation atteint avec un taux de MES de 1000 g/L) alors la réponse maximale de l'E85 est atteinte avec le facteur F3 au niveau 0 (soit un maximum de solubilisation est atteint avec un taux de MES de 300 g/L).

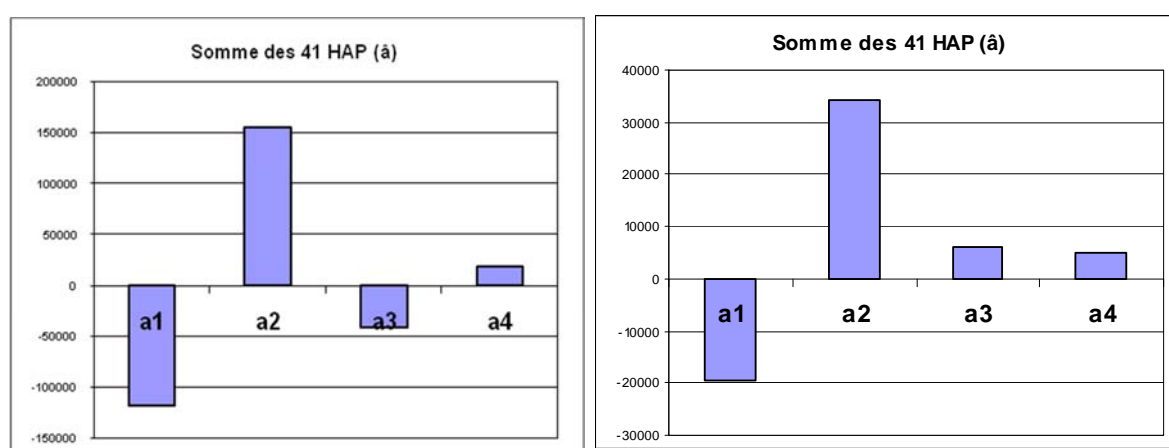


Figure C.4. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : SP95-E10 et E85

L'étude des coefficients pour le fioul lourd, le SP98 et le bitume est présentée sur la Figure C.5. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F1 au niveau 0 ce qui signifie que le maximum de

solubilisation des HAP est atteint avec 17°C de température. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F2 au niveau 0, ce qui signifie que le maximum de solubilisation des HAP est atteint avec un ratio de couverture 10%. La réponse maximale est atteinte avec le facteur F3 au niveau 0 (maximum de solubilisation des HAP est donc atteint avec un taux de MES de 300 g/L). Pour le facteur F4, la réponse maximale du SP95-E10 est atteinte au niveau 0, soit un maximum de solubilisation est atteint avec une salinité de 100 g/L).

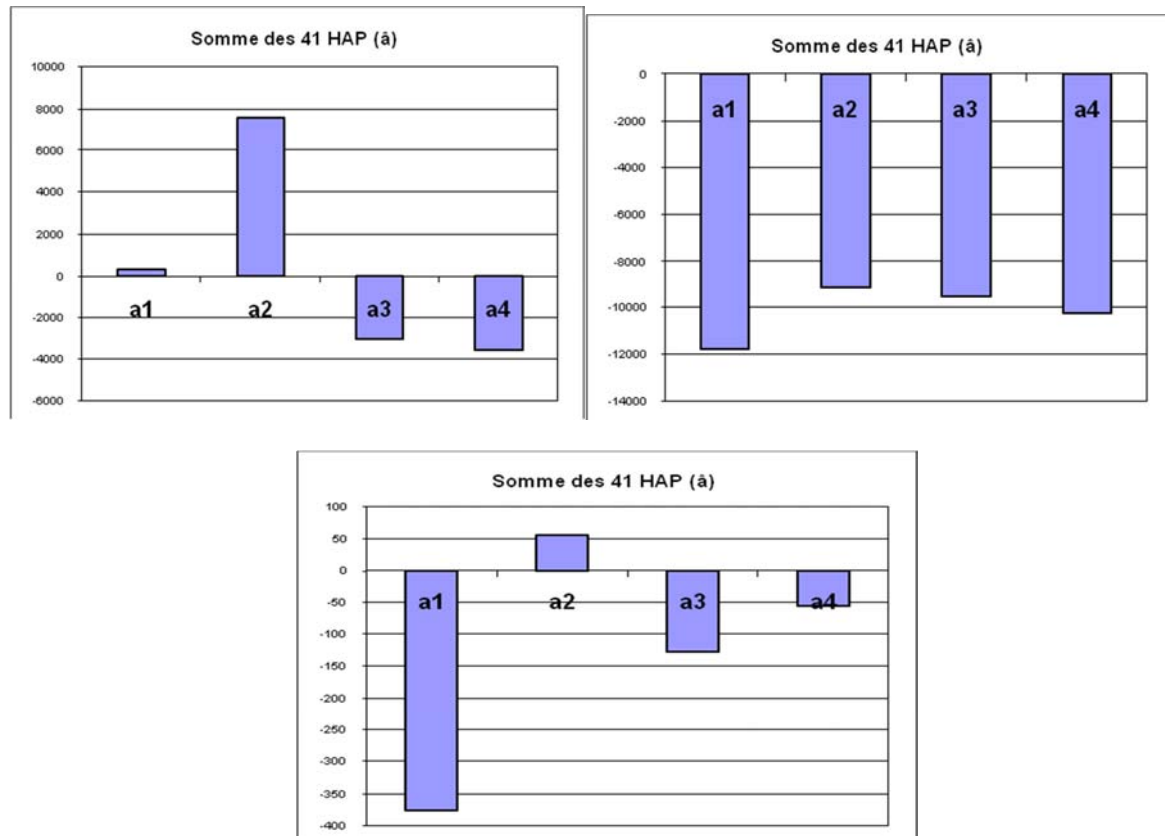


Figure C.5. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : SP98, Fioul lourd et Bitume

Les coefficients d'impacts reliés aux quatre paramètres sont rassemblés dans la Figure C.6. Selon les valeurs négatives ou positives des coefficients d'impact, on distingue trois comportements. Tout d'abord, les solubilités du fioul domestique, et du kérosène présentent **une grande sensibilité** aux paramètres étudiés, conduisant à considérer l'ensemble des paramètres comme influant pour ces hydrocarbures. Ensuite, pour le gazole et l'essence (SP95-E10), **une sensibilité modérée** a été observée pour les paramètres, tandis que les quatre autres produits (fioul lourd, E85, SP98 et bitume) ont montré une **faible sensibilité** à l'égard des mêmes paramètres. Il s'agit des produits qui présentent la plus faible fraction soluble totale.

Si l'on examine les résultats par paramètres, nous pouvons faire les remarques suivantes :

- Pour chaque produit, comme prévu, la fraction soluble dans l'eau est réduite au minimum avec **la température** minimale. Ce comportement a également été observé par Whitehouse dans le cas des HAP (Whitehouse 1984).
- Par ailleurs, on observe que la fraction soluble dans l'eau est réduite au minimum avec **le ratio de surface** maximal sauf pour le fioul lourd. Deux hypothèses peuvent expliquer ce résultat. La première hypothèse concerne des ratios trop faibles pour limiter le processus de volatilisation. Dans ce cas, une augmentation du ratio s'accompagne d'une proportion accrue de composés volatils solubilisés qui ont un temps de séjour limité dans la nappe. La seconde hypothèse considère qu'un ratio suffisamment élevé est susceptible de limiter le phénomène d'évaporation dû à la formation d'un film d'huile à la surface d'eau. Dans ces conditions, le processus de solubilisation est donc nettement ralenti et s'étale donc sur une durée plus longue, ce qui tend à minimiser les teneurs solubilisées.
- Une solubilité accrue de produits en présence de **matières en suspension** peut s'expliquer par l'affinité entre les particules en suspension et les HAP, phénomène qui accroît la solubilité apparente des HAPs.
- **Quant à la salinité**, l'effet apparaît assez peu significatif. Dans le cas du kérosène et du SP95, une solubilité minimale est obtenue avec le taux de salinité maximal. Ce résultat est conforme à l'effet relargage (« salting out » en anglais) décrit dans la littérature y compris dans le cas des hydrocarbures (Whitehouse, 1984). Le relargage a pour conséquence de limiter la solubilité des espèces organiques dans un milieu aqueux chargé en sel. Cet effet peut toutefois être modifié par la présence d'un film d'huile à la surface de l'eau (nappe) qui influe sur les équilibres.

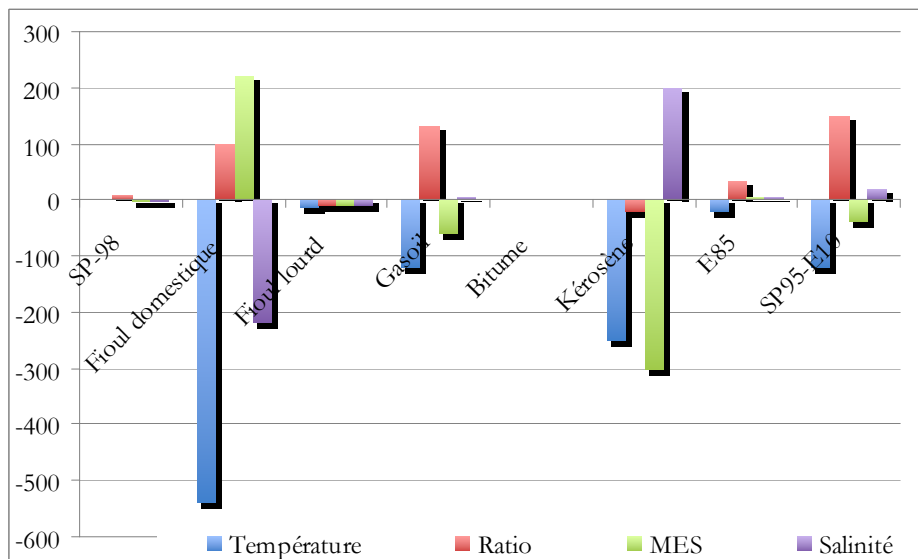


Figure C.6. Coefficients d'impacts environnementaux vers la fraction soluble de la somme des HAP dans l'eau

Les coefficients pour les quatre familles de HAP suivies sont présentés sur la Figure C.7. Rappelons que les naphtalènes, composés semi-volatils, constituent la majeure partie de la

fraction soluble dans l'eau par rapport aux autres composés (phénanthrène, chrysène et dibenzothiophène). Pour les naphthalènes, nous observons un effet température assez similaire à celui observé sur la somme des HAP. Mais, compte tenu de la solubilité et de la volatilité des naphthalènes, on observe logiquement un effet des MES moins marqué, et des effets "ratio" et "salinité" accrus, sur leur solubilité.

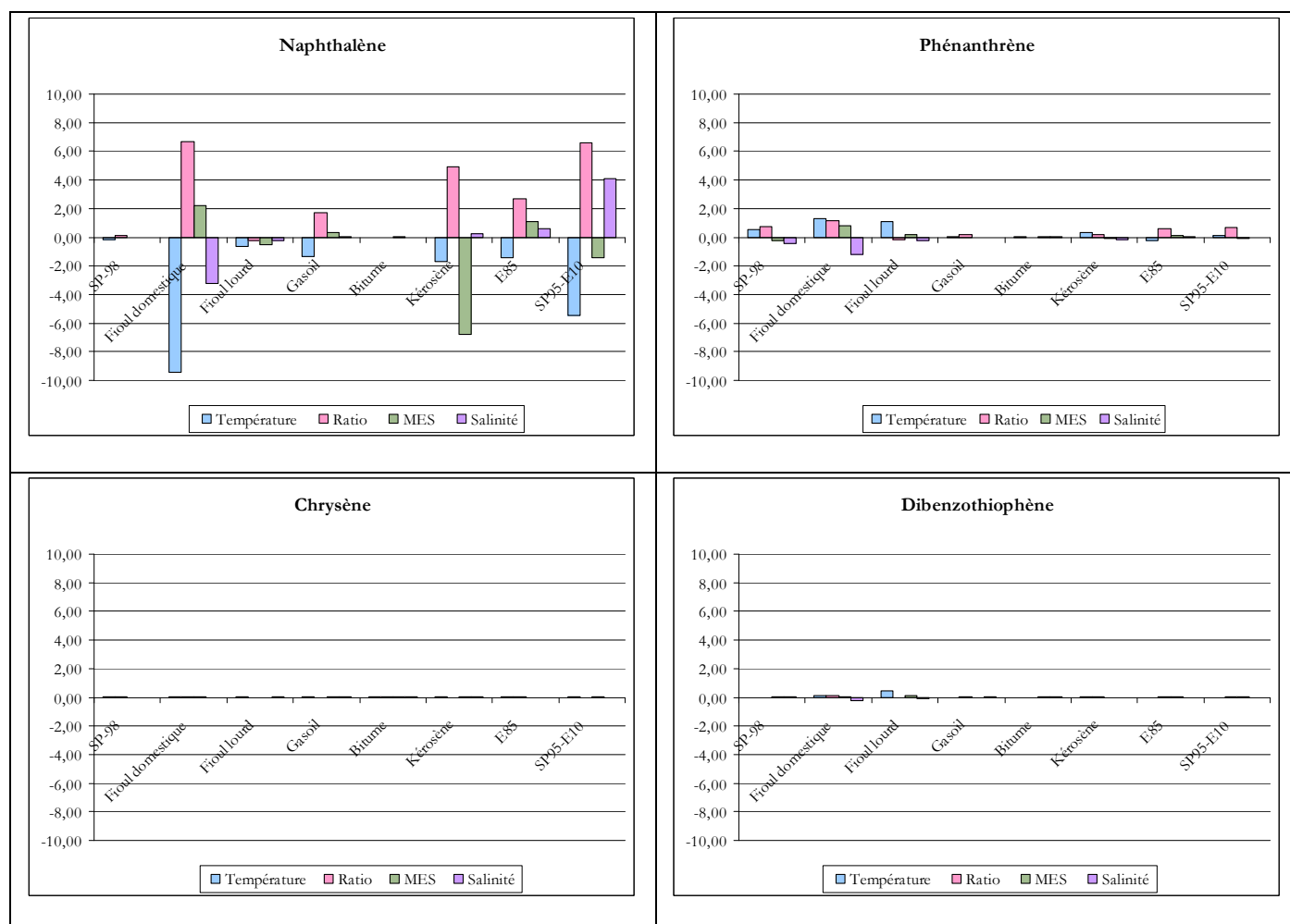


Figure C.7. Coefficients d'impacts environnementaux vers la fraction soluble des composés dans l'eau

Finalement, ce plan d'expériences a permis de discriminer les produits selon trois comportements différents en fonction du niveau de leur fraction soluble. Nous vérifions que ce sont les produits générant les fractions solubles les plus élevées, qui sont les plus sensibles aux paramètres étudiés. Mais, l'influence de ces paramètres ne peut s'interpréter qu'en tenant compte des différents transferts qui s'opèrent entre la nappe, l'eau, les particules solides et l'air.

Nous pouvons confirmer que tous les paramètres méritent d'être pris en compte, même si l'effet de la salinité apparaît moindre en comparaison des effets des autres paramètres.

2 CHAPITRE II. ÉTUDE DU COMPORTEMENT DES HYDROCARBURES EN EAU CONTINENTALE

La distribution des HAP entre l'eau et les sédiments jouent un rôle clé dans le transfert des composés organiques hydrophobes dans la chaîne alimentaire (Gobas and Maclean 2003). Les coefficients de partage octanol/eau (K_{ow}) des HAP sont relativement élevés, ce qui témoigne d'un important potentiel d'adsorption sur les matières organiques particulaires en suspension dans l'air ou dans l'eau, ainsi que d'un fort potentiel de bioconcentration dans les organismes (Zhou and Rowland 1997).

Pour quantifier les phénomènes de sorption sur les sols, les sédiments ou les particules en suspension, on utilise le coefficient de partage eau/solide qui est le rapport entre la concentration en élément adsorbé et la concentration à l'état dissous à l'équilibre. La partition des HAP entre l'eau et les phases solides dépend des caractéristiques du milieu. En effet, l'affinité des HAP pour les particules en suspension ou les sédiments dépend de la nature et de la granulométrie des MES (Harkey et al. 1994). L'affinité des HAP pour les MES augmente avec la salinité du milieu et diminue avec son pH (Zhou and Rowland 1997).

Il existe ainsi de nombreuses études sur la caractérisation des MES, le mode d'adsorption des matières organiques (Liu et al 2011) et leur transport (Periáñez et al. 1996)(Meybeck et al. 2003). Ces travaux conduisent également à examiner le devenir des HAP adsorbés et à étudier les mécanismes associés (Amir et al. 2005)

Dans une première approche, il nous paraissait intéressant de réaliser des cinétiques de solubilisation en eau naturelle pour identifier l'influence des matières en suspension sur les processus étudiés, pour les quatre composés suivants : le gazole, et les trois essences : SP98, SP95-E10 et E85.

2.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1.1 Analyses physico-chimiques de l'eau

Le Tableau C.4 récapitule les différentes normes en vigueur pour caractériser une eau. Les analyses ont été réalisées au laboratoire. Les protocoles sont présentés en annexe IV.

Tableau C.4. Analyses physico-chimiques

Paramètre		Unité	Méthode utilisée	Norme de référence
pH	pH	-	pH-mètre	NF T90-008
Température	T	°C	Thermomètre	
Conductivité	Cond.	μS/cm	Conductimètre	NF EN 27888 (T 90-031)
Turbidité	Turbi.	NTU	Turbidimètre	NF EN ISO 7027 (T 90-033)
Demande Chimique en oxygène	DCO	mg/L	Test rapide	NF T 90-101
Demande Biologique en oxygène	DBO ₅	mg/L	Ensemencement Incubation	NF EN 1899-1 (T 90-103-1)
Azote Total	Nt	mg/L	Test rapide	NF EN ISO 13395 NF EN 25663
Phosphore Total	Pt	mg/L	Test rapide	NF EN ISO 6878
Ammonium	NH ₄ ⁺	mg/L	HPIC	NF EN ISO 90015-2
Nitrates	NO ⁻	mg/L	HPIC	NF EN ISO 14911 (T 90-048)
Matières en suspension	MES	Mg/L	-	NF EN 872 (NF T 90-105)

2.1.2 Cinétique en eau de Garonne

L'eau de Garonne utilisée a été prélevée à 10 cm de profondeur à 1,50 m du rivage au niveau du pont saint Michel de Toulouse.

Les conditions expérimentales sont les mêmes que celles mises en œuvre pour les cinétiques avec l'eau Milli-Q (Partie B chapitre II). Les essais sont réalisés à température ambiante, avec un relevé de température de l'air et de l'eau dans un bécher témoin. Le ratio de surface hydrocarbure/eau est de 10 %, ce qui correspond à l'ajout d'1 g d'hydrocarbure dans 1000 g d'eau.

Pour la mise en contact des hydrocarbures avec l'eau, 2000 g d'eau de Garonne sont placés dans un bécher de 3 L muni d'un barreau aimanté. Puis, 200 mg d'hydrocarbure sont introduits, avant de placer l'ensemble sous agitation lente sans vortex et à l'obscurité pendant 48 h. Une cinétique sur deux jours est réalisée pour chaque hydrocarbure. Les temps de prélèvements sont indiqués dans le Tableau C.5. Deux mesures sont réalisées pour chaque point des cinétiques.

Le protocole analytique des HAP est le même que celui des essais précédents (Partie B chapitre II).

Tableau C.5. Prélèvements des essais cinétiques en eau de Garonne

Temps de mise en contact (h)										Temperature (°C)
0.25	0.5	1	2	3	4	10	24	32	48	20

2.2 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

2.2.1 Qualité physico-chimique de l'eau

L'eau de Garonne utilisée présente les caractéristiques indiquées dans le Tableau C.6. La qualité de l'eau est comparée à celle de l'eau « ultra-pure ».

Tableau C.6. Qualités physico-chimiques exigées

Paramètre		Unité	Résultats	
			Eau milli-Q	Eau Garonne
pH	pH	-	4,70	7,94
Température	T	°C	20,1	17,5
Conductivité	Cond.	μS/cm	0,15	6,42
Turbidité	Turbi.	NTU	<10	<10
Demande Chimique en oxygène	DCO	mg/L	<10	<10
Demande Biologique en oxygène	DBO ₅	mg/L	<3	<3
Azote Total	Nt	mg/L	<10	<10
Phosphore Total	Pt	mg/L	<0,05	0,06
Ammonium	NH ₄ ⁺	mg/L	<0,5	<0,5

Nitrates	NO ⁻	mg/L	<0,5	1,0
Matières en suspensions	MES	mg/L	NQ	29,70
Matières volatiles en suspension	MVS	mg/L	NQ	29,94

NQ : non quantifié

L'eau de Garonne se différencie de l'eau « ultra-pure » par le taux de matière en suspension et par sa conductivité plus élevée due à la présence de substances minérales dissoutes (ions). Il en résulte un pH plus proche de 7 pour l'eau de Garonne.

2.2.2 Comportement des hydrocarbures

Les profils chimiques des fractions solubles, illustrés par les chromatogrammes de la Figure C.8, montrent que les compositions des fractions solubles et des hydrocarbures bruts sont différentes et ce, en raison de la différence de solubilité des produits. De plus, nous observons que l'hydrocarbure chargé en HAP au départ génère davantage de HAP dans l'eau. Cependant, seule une petite quantité de HAP sont solubilisés.

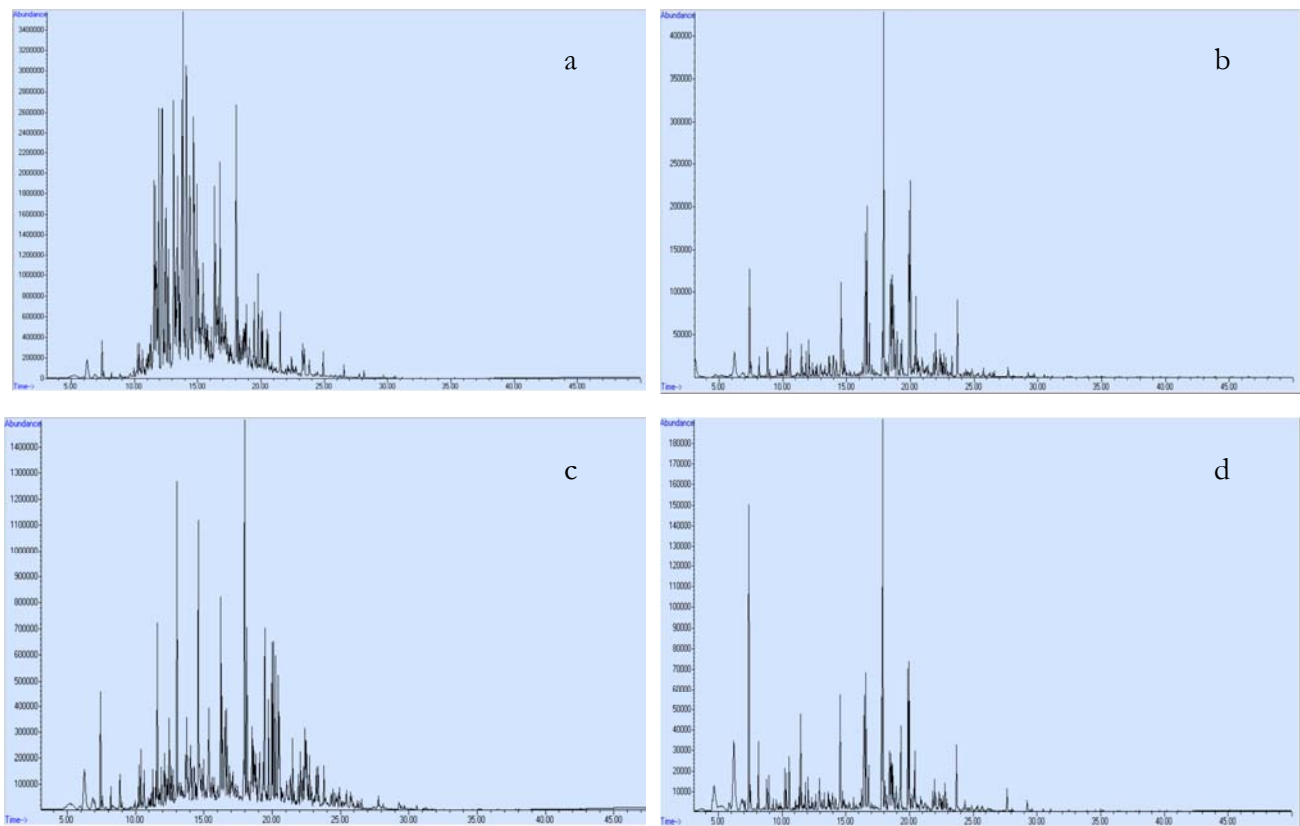


Figure C.8. Chromatogrammes (HRGC-MS analyse en SIM mode) des fractions solubles après 24h de mise en contact. a) après dépôt de gazole. b) après dépôt de SP98. c) après dépôt de SP95-E10. d) après dépôt d'E85.

2.2.3 Répartition temporelle des HAP

Les résultats sont présentés sur la base de (1) la somme des 41 HAP suivis, (2) du naphtalène qui représente les HAP légers comprenant 2 cycles aromatiques, (3) du phénanthrène qui représente les HAP de poids moléculaire intermédiaire (3 cycles aromatiques), (4) du chrysène qui représente les HAP lourds (5 cycles aromatiques) et (5) du dibenzothiophène indicateur de la pollution soufrée.

Les Figures C.9 et C.10 présentent la composition des fractions solubles en fonction du temps, pour les différents hydrocarbures. Comme en eau « ultra-pure », chaque profil cinétique présente un maximum de solubilité, suivi d'une décroissance de la masse solubilisée. La diminution de la masse solubilisée s'opère sur une durée nettement plus élevée dans le cas du gazole que dans le cas des essences. En effet, le phénanthrène solubilisé a un temps de séjour beaucoup plus long avec une concentration ne diminuant qu'au bout de 35 heures ; il s'agit en effet d'un composé moins volatil que les naphtalènes.

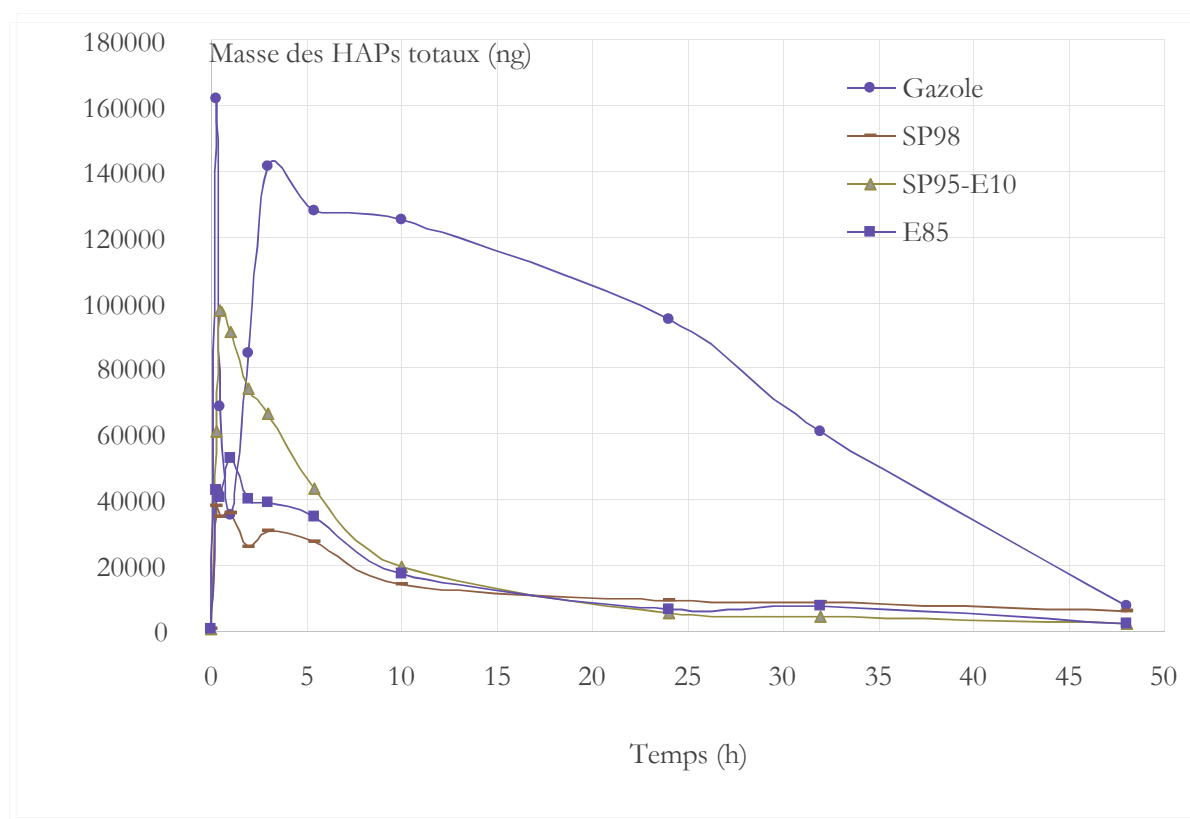


Figure C.9. Cinétiques de solubilisation en eau de Garonne

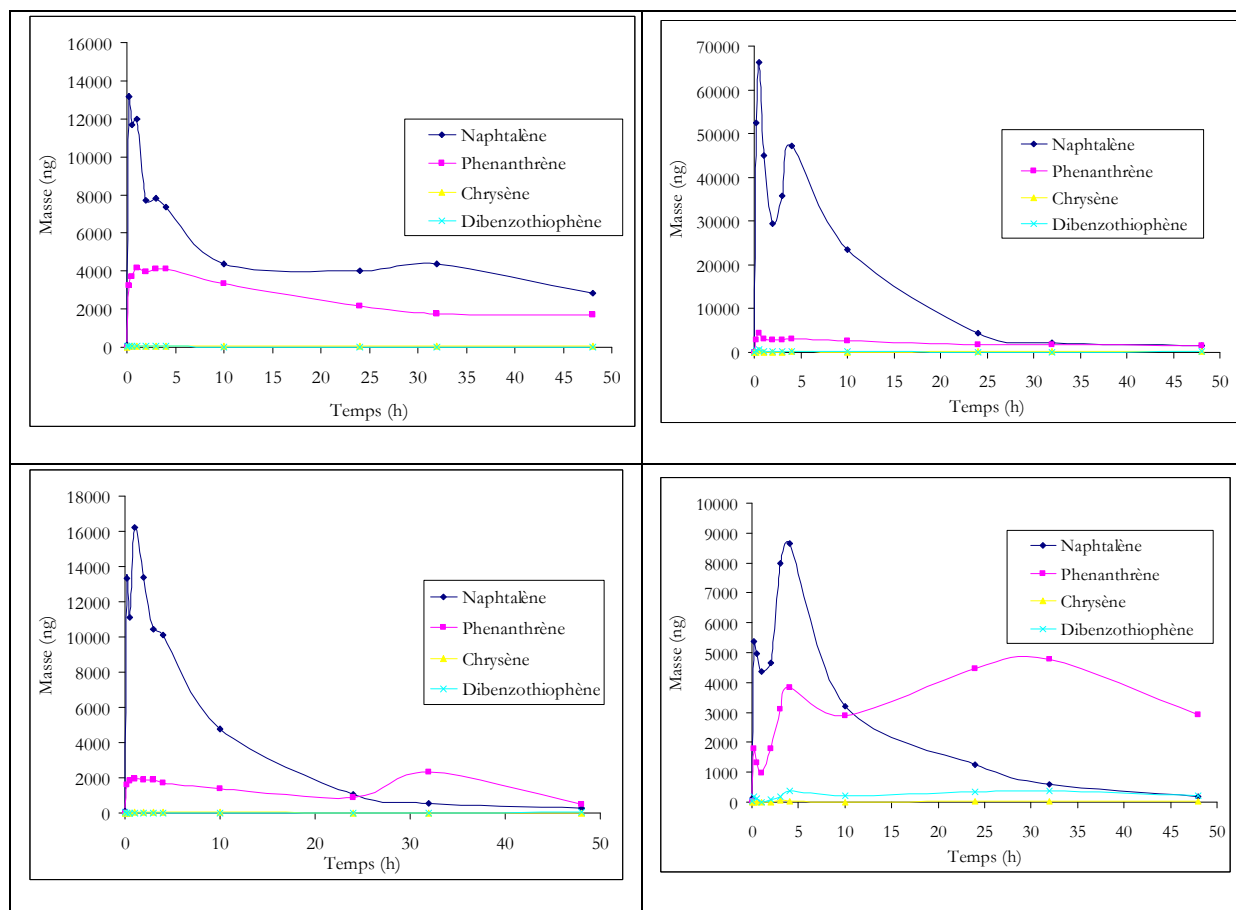


Figure C.10. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau de Garonne. a) après dépôt de SP98. b) après dépôt de SP95-E10. c) après dépôt d'E85. d) après dépôt de gazole.

2.2.4 Comparaison de la solubilisation des HAP dans l'eau « ultra-pure » et l'eau naturelle

La Figure C.11 présente les cinétiques de solubilisation des HAP dans l'eau naturelle comparées à celles dans l'eau milli-Q. Il s'agit de concentrations en HAP en ng par litre. On peut noter que les pics de solubilité sont concomitants avec ceux observés en eau milli-Q. Le pic de solubilisation en eau de Garonne présente un profil particulier avec un second pic de solubilisation, notamment pour le gazole dont le phénanthrène a tendance à s'adsorber. L'intervention du processus d'adsorption peut être à l'origine de cette caractéristique.

De plus, on observe des masses solubilisées plus élevées dans le cas de l'eau naturelle, ce qui traduit le déplacement de l'équilibre de solubilisation par le processus d'adsorption. En fait, la méthode de dosage permet de déterminer à la fois la masse de HAP solubles et la masse de HAP sorbés sur les particules solides. Nous quantifions donc une masse totale transférée en phase aqueuse (HAP solubles et adsorbés).

Ce résultat est cohérent avec la tendance obtenue avec le plan de Taguchi, à savoir que la présence de matières en suspension semble accroître la limite de solubilité des HAP, processus s'expliquant par l'affinité des HAP avec les particules solides.

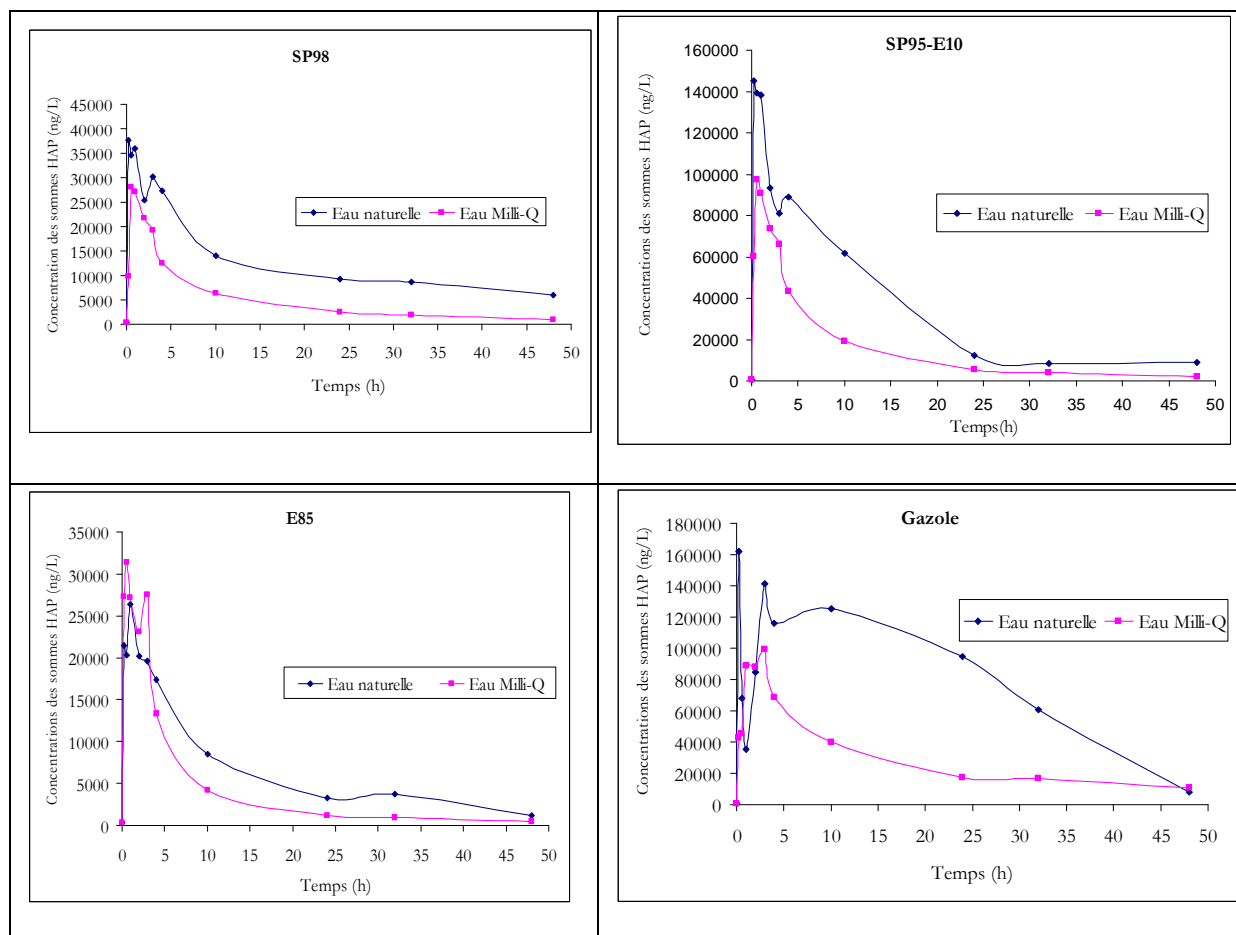


Figure C.11. Concentration en HAP dans l'eau de Garonne et en eau milli-Q. a) après dépôt de SP98. b) après dépôt de SP95-E10. c) après dépôt d'E85. d) après dépôt de gazole.

Dans le cas de l'E85, ce phénomène apparaît plus atténué que pour les trois autres produits, ce qui semble indiquer que l'effet solvant de l'éthanol retient les HAP solubilisés en phase aqueuse. Dans ce cas, l'équilibre de solubilité étant peu déplacé, les courbes des fractions solubles de l'E85 et du SP98 se superposent.

En conclusion, les profils cinétiques réalisés en eau « ultra-pure » et en eau de Garonne sont similaires, avec une solubilisation maximale atteinte dans les premières heures. Cependant, les quantités de HAP solubilisés en eau naturelle sont plus élevées que celles obtenues en eau milli-Q et donnent lieu à une persistance plus grande dans le milieu, notamment lorsque la fraction est riche en phénanthrène.

Enfin, il semble qu'une teneur élevée en éthanol limite le phénomène d'adsorption des HAP sur les matières en suspension, ce qui compense l'effet co-solvant de l'éthanol qui tend à augmenter la fraction soluble. Il en résulte des conséquences environnementales équivalentes entre une essence classique et une essence oxygénée E85.

3 CHAPITRE III. INFLUENCE D'UN AJOUT D'HYDROCARBURES SUR LA FLORE BACTERIENNE D'UNE EAU CONTINENTALE

Dans la bibliographie, les travaux abordant les problèmes de pollution par des produits pétroliers en milieu aquatique ou dans les sols portent, très majoritairement, sur les aptitudes des micro-organismes à dégrader les polluants (Timmis, 2010). La biodégradation par les bactéries est le processus dominant pour l'élimination microbienne des HAP dans les environnements contaminés (Abrajano et al. 2007).

A ce jour, nous n'avons que peu de connaissance sur l'évolution de la population microbienne du milieu récepteur en cas de contamination accidentelle. La gestion de la ressource en eaux continentales face aux risques de pollutions par hydrocarbures est une thématique récente. Ainsi, en complément de l'étude physico-chimique présentée dans les chapitres et paragraphes précédents, cette dernière partie du travail a pour objectif de tester l'impact d'une pollution aux hydrocarbures sur la flore bactérienne d'une eau de rivière.

Techniques de quantification des populations microbiennes

Afin d'évaluer la réponse microbienne à un déversement d'hydrocarbure, il est nécessaire de quantifier la population présente dans l'eau de la rivière.

Il existe de nombreuses techniques d'estimation de la quantité de biomasse : les méthodes directes de détermination d'une concentration cellulaire en nombre (cellules/ml) ou en masse (g/ml) et les méthodes indirectes basées sur la mesure d'un paramètre corrélable avec la concentration (teneur en protéines, concentration d'un constituant ou activité métabolique).

La méthode la plus simple et rapide pour évaluer une concentration en micro-organismes consiste à mesurer l'absorbance du milieu par spectrophotométrie à une longueur d'onde définie, généralement 600 ou 620nm. Par ce moyen, il est possible d'estimer sur le moment la population après une corrélation préalable avec la numération ou la masse. On évite ainsi le temps d'incubation pour une croissance ou de séchage pour un poids sec. Dans le cas de ce travail le niveau de population microbienne est trop faible et il n'est pas possible d'utiliser cette technique de caractérisation de l'ensemble de la flore microbienne de l'échantillon d'eau de rivière.

Le choix de la méthode est guidé par le contexte : seuil de détection souhaité, nature du milieu et complexité de la matrice, biodiversité, prise en compte de la population totale ou viable, temps de réponse souhaité, appareillage (coût, niveau de technicité) ...de nombreuses contraintes sont à considérer.

En milieu aquatique naturel, nous sommes confrontés à une population microbienne très diversifiée (Coulon et al. 2007) et une concentration considérée comme faible nécessitant une précision adaptée à des populations largement inférieures au million d'unités par ml.

La norme de dénombrement en analyse des eaux porte sur les micro-organismes revivifiables (NF EN ISO 6222 : 1999). Elle préconise le comptage des colonies après ensemencement d'une gélose nutritive (Rodier et al. 2009). Nous avons recherché dans la bibliographie les pratiques les plus courantes pour l'analyse des micro-organismes totaux dans les eaux fluviales et marines. Nous avons constaté que la technique très classique de numération sur boîtes et, dans une moindre mesure, la détermination en culture liquide du nombre le plus probable (MPN- Most Probable Number) sont très largement utilisées. Ces méthodes dépendent de la croissance microbienne et nécessitent un délai de latence avant l'obtention des résultats.

Le dénombrement par comptage sur milieu gélosé est basé sur la numération directe des colonies formées sur une gélose nutritive par culture d'un aliquot d'échantillon initial ou d'une dilution. Les boîtes sont ensuite incubées avant le comptage. Cette méthode est fondée sur la capacité des cellules à se reproduire. Il n'est pas certain que chaque colonie provienne d'une cellule isolée, aussi les résultats sont-ils exprimés en termes d'unité formant colonie (UFC/ml) plutôt qu'en nombre de micro-organismes (cellules/ml). Il ne s'agit donc pas d'une observation du métabolisme des bactéries individuelles. Cela n'en demeure pas moins une méthode de référence dans de nombreux domaines, en particulier les études de qualités microbiologiques qui évaluent les risques de contamination et utilisent largement la possibilité de concentrer un échantillon après filtration sur membrane et donc d'accéder à des concentrations très faibles. Le nombre de colonies compté par boîte doit être compris entre 30 et 300 (Rodier et al. 2009).

La méthode de dénombrement en milieu liquide par détermination du nombre le plus probable (MPN) repose sur la mise en culture de plusieurs dilutions en parallèle, à raison de plusieurs tubes par dilution. Après incubation, on compte le nombre de tubes présentant un trouble, signe de présence microbienne. Les tables de Mac Graddy, basées sur une application de la loi statistique de Poisson, indiquent en fonction du nombre de tubes jugés positifs pour chaque dilution le nombre caractéristique le plus probable et son intervalle de confiance.

Nous avons recensé plusieurs études, pour les dix dernières années, visant à développer ou corréler plusieurs techniques de quantification des micro-organismes dans l'eau entre elles (Tableau C.8). Microscopie à épifluorescence et cytométrie en flux ont été validées par rapport aux méthodes traditionnelles. Elles reposent sur l'utilisation de fluorochromes qui permettent de détecter spécifiquement les micro-organismes les ayant produits (protéine verte fluorescente) ou fixés (acétate de fluorescéine, acridine orange). Le seuil de détection de la microscopie de l'ordre d'un million de cellules/ml est un des inconvénients de la technique et implique une étape de concentration par filtration sur membrane pour les suspensions peu concentrées. La cytométrie en flux permet de mesurer sur une suspension cellulaire, même très diluée et plus largement pour des particules marquées abiotiques, les caractéristiques individuelles de chaque particule grâce à plusieurs faisceaux laser et détecteurs spécifiques comme l'intensité de la fluorescence, la mesure d'angle de diffusion de la lumière. Cette technique nécessite un appareillage spécifique très onéreux et un fort niveau de technicité pour la mise au point de la méthode appliquée à un échantillon donné.

Le tableau C.7 indique les principaux avantages et inconvénients de toutes ces techniques de numérations directes.

Tableau C.7. Comparaison de différentes méthodes de numération directe (d'après Josset et al. 2008)

Méthode	Grandeur mesurée	Avantages	Inconvénients
Étalement sur boîtes	UFC/ml	Méthode largement utilisée (comparaison de résultats aisée) Seuil de détection bas Niveau de technicité	Temps d'incubation Concentration sous-estimée (colonies et non cellules/ml) Uniquement cellules cultivables Coût main d'oeuvre (temps de préparation et de manipulation)
Nombre le Plus Probable <i>Most probable number</i> MPN	UFC/ml	Méthode largement utilisée Seuil de détection bas Niveau de technicité	Evaluation statistique (tables de Mc Graddy) Temps d'incubation Uniquement cellules cultivables
Microscopie épifluorescence	Cellules/ml	Comptage direct Résultat rapide	Niveau de technicité (Maîtrise analyse d'image) Seuil de validité de la méthode
Cytométrie de flux	Cellules/ml	Comptage direct Résultat rapide Entièrement automatisé	Etalonnage long Interprétation difficile Coût appareillage Niveau de technicité élevé

Pour la réalisation de ce travail, nous avons retenu la mise en culture sur gélose, technique de référence pour l'estimation de la flore bactérienne globale. Elle est, par ailleurs, très largement utilisée dans les travaux portant sur la biodégradation des hydrocarbures et adaptée à la contrainte du seuil de population.

Une autre approche de la quantification d'une population de micro-organismes consiste à doser un composé spécifique de la biomasse. Il est alors possible d'accéder à la concentration d'un constituant, d'un métabolite ou à une activité spécifique. Cette approche sera privilégiée pour estimer la réponse immédiate de la flore microbienne au déversement brusque des hydrocarbures.

La bioluminescence est une technique qui permet de mesurer des concentrations d'ATP (Adénosine TriPhosphate). Cette technique s'appuie sur la nature de l'énergie cellulaire, en effet toute cellule vivante renferme de l'ATP. Cette molécule est donc un indicateur de l'activité métabolique (sa concentration intracellulaire dépend de l'état physiologique) et/ou de la viabilité de la biomasse présente dans les échantillons.

Lors du dosage, l'ATP réagit avec la luciférine en présence de l'enzyme luciférase. Il en résulte un dérivé luciféryl-adénylé et du phosphate inorganique. En présence d'oxygène, l'oxydation du dérivé adénylé libère des photons (Figure C.12). La quantité de lumière émise est proportionnelle à la concentration en ATP. Cette énergie lumineuse est quantifiée par un luminomètre sous forme de RLU («Relative Light Unit»). La teneur en ATP dépend de la nature du micro-organisme, une bactérie contient 1fg ATP/cellule (Stanley, 1989). Actuellement, il est possible de doser des quantités d'ATP de l'ordre de 10^{-3} voire 10^{-4} nM (Hammes et al 2010). La mesure est très rapide, et s'effectue dans la minute. Cette technique est très utilisée en contrôle qualité pour détecter une éventuelle contamination microbienne dans des aliments, des produits environnementaux ou contrôler l'efficacité des opérations de nettoyages et désinfection.

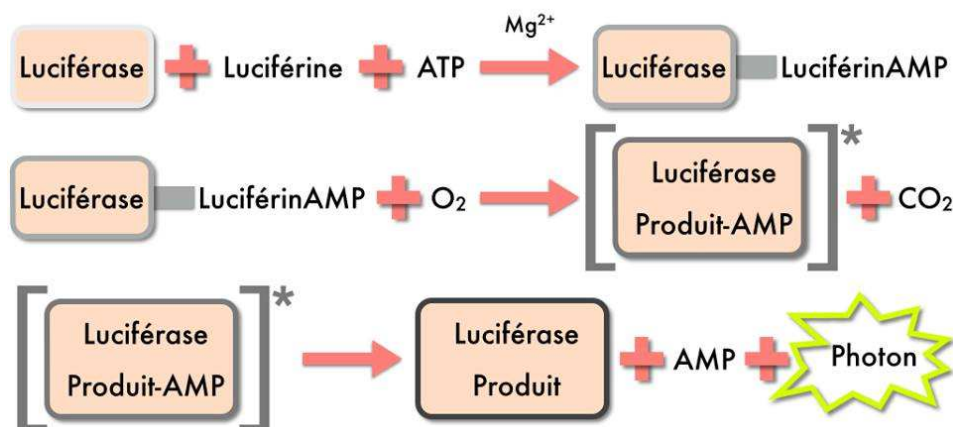


Figure C.12. Schéma du principe de la réaction lumineuse pour le dosage d'ATP

Tableau C.8. Tableau récapitulatif de différentes études sur les techniques de quantification des micro-organismes dans des eaux fluviales ou marines.

Méthode	Contexte	Références
-Étalement sur boîtes (gélose nutritive) -Culture après filtration sur membrane -MPN -Microscopie à épifluorescence	Evaluation/Comparaison de différentes méthodes pour dénombrer les bactéries coliformes dans l'eau	(Wohlsen T., Bates J. et al. 2006)
-Étalement sur boîtes -Cytométrie en flux -Dosage de l'ATP	Intérêt du dosage d'ATP – Etude par corrélation entre dosage d'ATP et cytométrie en flux	(Hammes F., Goldshmidt F. et al. 2010)
-Microscopie à épifluorescence -Cytométrie en flux	Validation d'une méthode de quantification directe de biomasse par cytométrie en flux appliquée à des traitements d'effluents.	(Foladori P., Bruni L. et al. 2010)
-Cytométrie en flux	Analyse de la viabilité et de l'intégrité cellulaire de bactéries hétérotrophes en milieu marin	(Grégori G., Denis M. et al. 2003)
- Étalement sur boîtes -Microscopie à épifluorescence - Cytométrie en flux	Différentes méthodes de numération pour comparer les populations d'eaux de mer et celles des eaux de ballasts marins	(Joachimsthal E.L., Ivanov V. et al. 2003)
-Etalements sur boites -Microscopie à épifluorescence -dosage de l'ATP	Comparaison entre dosage d'ATP, numérations par microscopie et culture sur boîtes pour étudier les eaux souterraines du bouclier scandinave	(Eydal H.S.C. and Pedersen K. 2007)

Tableau C.9. Méthodes d'estimation de la population pour des travaux de biodégradation d'hydrocarbures.

Méthode	Identification ARNr 16S	Micro-organisme	Hydrocarbures		Conditions			Références
			Type	Concentration	Température (°C)	Temps	Salinité	
Comptage sur boîtes	—	<i>Mycobacterium flavescens</i> MEBIC 5140 <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> MEBIC 5141	Fluorène Phénanthrène Pyrène	160µg/L 400µg/L 60 µg/L	25	0,2,4... 20 h		(Wei X.Y., Sang L.Z. et al. 2009)
Spectrophoto mètrie - DO	Oui	<i>Cycloclasticus</i> sp.A5	Pétrole		25			(Teramoto M., Suzuki M. et al. 2010)
Comptage sur boîtes	Oui	<i>Ochrobactrum</i> sp. <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Naphtalène Fluorène Phénanthrène Pyrène		37	1, 2,...5 jours	30 g/L	(Arulazhagan P., Vasudevan N. et al. 2010)
Comptage sur boîtes MPN	—	<i>Sphingomonas</i> sp.	Phénanthrène	5,25,35,55 mg/g sédiments	20, 25, 30 et 35	1h, 1, 2, 4 et 6 jours	5, 15, 35 ppt	(Chen J., Wong M.H. et al. 2008)
MPN	—	Micro-organismes indigènes	Phénanthrène Chrysène Benzo(a)pyrène Benzo(g,h,i)pery- lène					(Xia X.H., Yu H. et al. 2006)

MPN	Oui	<i>Alcanivorax borkumensis</i> strain ST-T1 <i>A.venetianus</i> strain T4	Huile	1 g/L	20	15 jours		(Hara A., Sytsubo K. et al. 2010)
MPN	Oui	<i>Thalassolituus.</i> <i>Cycloclasticus.</i> <i>Roseobacter.</i>	Huile	0,1 v/v	4, 12 et 20	21, 42, 63 et 90 jours		(Coulon F., MacKew B.A. et al. 2007)
Dosage des protéines	—	<i>Geobacillus</i>	Fluorène Phénanthrène Fluoranthrène		20, 40 et 60			(Viamajala S., Peyton B.M. et al. 2007)

3.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1.1 Prélèvements des eaux de Garonne

Les prélèvements d'eau de rivière ont été réalisés dans la Garonne. Ils ont été effectués le matin même des expérimentations afin que la flore microbienne soit la plus représentative possible de celle de la rivière, et éviter une étape de stockage. Pour chaque série d'expérience, un témoin avec de l'eau de la Garonne est mené en parallèle des ajouts d'hydrocarbure pour s'affranchir de la variabilité de la population initiale due à l'échantillonnage.

L'eau est prélevée à 10 cm de la surface avec une canne de prélèvement de 2 m de longueur, depuis le bord de la rivière au niveau de l'Aviron Toulousain (île du Ramier - 10L/prélèvement).

3.1.2 Hydrocarbures

Dans cette partie, l'étude a été réalisée avec 3 des produits pétroliers du panel utilisé précédemment : gazole, essence SP98 et essence SP95-10. De la même façon que pour les essais de solubilisation (Partie C- chapitre II), ils ont été stockés à 4°C et laissés à température ambiante pendant 12h avant l'ajout dans l'eau.

3.1.3 Conditions expérimentales

Tous les essais ont été réalisés dans 2L d'eau de Garonne dans des béchers de 3L nettoyés à l'eau Milli-Q, au méthanol et à l'acétone. L'eau est placée sous agitation magnétique modérée sans vortex, chaque bécher étant enveloppé de papier aluminium pour limiter le passage de la lumière à la surface.

Comme pour les essais antérieurs, la quantité d'hydrocarbure ajoutée correspond à un ratio surface hydrocarbure/eau de 10%, soit une addition de 200mg d'hydrocarbure. Le mélange eau + hydrocarbure est maintenu sous agitation magnétique sans vortex pendant toute la durée des expériences soit 48h.

Les essais sont effectués à température ambiante. La température a été mesurée au préalable et sa stabilité vérifiée. La pièce étant climatisée, il n'est pas observé de variation notable, la température est de l'ordre de 20°C pour l'ensemble des tests.

3.1.4 Dénombrement des bactéries par étalement sur milieu solide

Le dénombrement des bactéries est effectué par ensemencement en surface sur une gélose nutritive. Pour cette analyse de la flore, le milieu de culture choisi est la gélose trypticase-soja (Tableau C.10) qui permet une croissance des micro-organismes revivifiables et cultivables sans exercer de pression de sélection particulière. Ainsi, il est possible de dénombrer les bactéries hétérotrophes aérobies présentes dans l'eau de rivière.

Tableau C.10. Composition de la gélose Trypcase-Soja

Composés	Concentration (g.L ⁻¹)
Peptone de caséine	15,0
Peptone de farine de soja	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Agar	15,0
pH	7,3 ± 0,2

Le protocole expérimental est schématisé dans la Figure C.13.

Chaque échantillon est dilué jusqu'à 1/1 000 dans de l'eau Milli-Q stérilisée (120 °C, 20 min). Trois boîtes de culture sont ensemencées pour chaque dilution, 100 µl d'échantillon/boîte. L'étalement est réalisé en utilisant des billes de verres stériles (Figure C.14). Les boîtes sont incubées dans l'obscurité à température ambiante pendant 3 jours. Le nombre de bactéries est déterminé en calculant la moyenne des valeurs obtenues sur les boîtes après correction par les facteurs de dilution correspondants. Le résultat est exprimé en unité formant colonie par mL (UFC/mL). La valeur est comptabilisée si le nombre de colonies est compris entre 30 et 300 UFC/boîte.

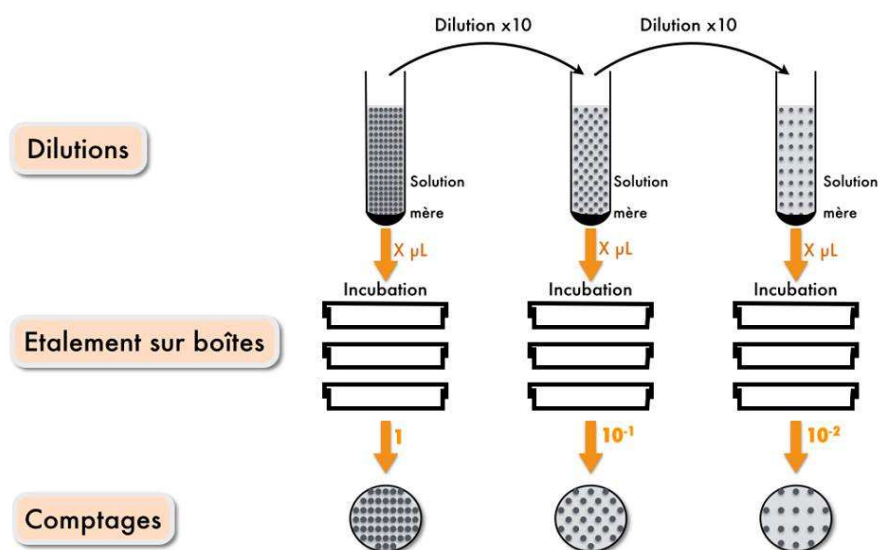


Figure C.13. Schéma du protocole expérimental pour le dénombrement des bactéries sur gélose nutritive.



Figure C.14. Matériel utilisé pour les essais d'étalement sur milieu solide

3.1.5 Quantification de l'ATP

Le dosage de l'ATP est effectué avec un analyseur portable LUMinator-T™ de CHARM Sciences Inc. (distribué en France par EURALAM). Il s'agit d'un analyseur portable adapté pour les analyses de contrôle d'hygiène qui permet de détecter des concentrations très faibles en ATP.

C'est le test PocketSwab Plus (CHARM Science Inc.) pour la détection de l'ATP extracellulaire dans l'eau qui a été utilisé bien qu'il soit habituellement utilisé pour la vérification de l'hygiène de surface. Ce test a la forme d'un stylo (Figure C.15). Il est constitué d'un capuchon supportant un écouvillon et d'un corps dont l'extrémité est un microtube transparent qui permet la détection de la lumière émise. Cet embout est scellé par un opercule métallique. Il renferme, dans un petit compartiment supérieur, les réactifs dans une solution tampon et, dans le fond du microtube, un cachet de luciférine/luciférase. Lorsque l'on visse le capuchon sur le corps du test, l'écouvillon casse les deux opercules et libère le tampon dans le microtube. Le comprimé de luciférine/luciférase se dissout dans le tampon. La réaction entre la luciférine et l'ATP se produit très rapidement. La lecture se fait dans la minute qui suit. La quantité de lumière émise est mesurée dans la chambre de lecture du luminomètre et la valeur s'affiche en Unité Relative de Lumière (RLU – Relative Light Unit).



Figure C.15. ATPmétrie : luminomètre (CHARM SCIENCES INC, USA) et test PocketSwap plus

Pour adapter la méthode par absorption sur l'écouvillon, la reproductibilité du volume d'échantillonnage a été validée sur 7 essais par pesée de 100 μ L d'eau, la variation maximale observée est de l'ordre de 0.2%. L'imprégnation sur l'écouvillon sans perte de liquide a également été vérifiée, la perte maximale a été de 3%. La tige de l'écouvillon a été coupée pour permettre de peser l'extrémité avant et après l'absorption de 100 μ L d'eau et le dosage de l'ATP effectué (Tableau C.11). La précision sur la mesure de l'ATP est de l'ordre de 13 %. Cette valeur est cohérente avec la faible concentration de biomasse et donc d'ATP extracellulaire dans le milieu. Dans des boues activées beaucoup plus concentrées, la précision de la mesure est de 6% (Kucnerowicz et Verstraete 1979)

Ayant observé qu'un volume de 100 μ L correspondait à l'imprégnation totale de l'écouvillon, le volume de pipetage a été ramené à 80 μ L. La perte de liquide maximale a été réduite à moins de 2%.

Tableau C.11. Validation de la méthode absorption par l'écouvillon – ATP pour 100 μ L

						Moyenne	Ecart type
Masse (g)	0,0992	0,0993	0,0990	0,0969	0,0974	0,0984	1.1%
ATP (RLU)	15750	20641	18993	14895	16111	17484	13.4%

Le protocole expérimental utilisé pour le dosage de l'ATP libre dans le milieu consiste à prélever l'échantillon dans le bécher à 1 cm de la surface, à imprégner l'écouvillon avec l'échantillon, à introduire l'écouvillon dans le corps du stylo, puis à visser pour percer les opercules. L'ensemble est secoué 3 fois puis le pocketswab est inséré dans la chambre de lecture dans la minute qui suit. Le résultat du comptage des photons est exprimé en RLU.

3.2 RESULTATS ET INTERPRETATION

3.2.1 Dénombrement après culture sur gélose nutritive des bactéries hétérotrophes

Les essais ont pour objectif de tester la réponse intrinsèque des bactéries dans leur environnement naturel à une pollution accidentelle aux hydrocarbures. Aucun complément n'a été rajouté à l'eau fluviale.

Une étude cinétique a été réalisée pour des durées de mise en contact de 1h, 2h, 4h, 6h, 24h et 48h (6 points) pour chaque hydrocarbure et le témoin. Pour le dernier lot, le suivi a été réalisé sur 72h.

Pour les 3 hydrocarbures et le témoin, la population reste à niveau constant sur les 6 premières heures. Les valeurs (UFC/ml) obtenues pour les numérations sont indiquées dans les tableaux C.12, C.13 et C.14. Les comptages effectués en triplicat ont été homogènes avec une faible dispersion compte tenu des concentrations totales peu élevées. Globalement, aucune mortalité particulière induite par la présence des HAPs n'est à relever sur ce laps de temps. Après 24h, la concentration en bactéries a été multipliée par un facteur 10 en présence de gazole et de SP98 avec le même ordre de grandeur que le témoin. La croissance est plus importante sur SP95-E10 (x50). Elle se poursuit pour les 3 hydrocarbures jusqu'à 48h (Figures C.16, C.17 et C.18). Sur les deux jours, le rapport entre la concentration cellulaire de l'eau polluée et celle du témoin permet la hiérarchisation suivante par degré d'affinité croissante au carburant : gazole - SP98 - SP95-E10.

La fraction soluble des hydrocarbures a été tolérée et même parfois partiellement consommée par les micro-organismes. Dans tous les cas, la croissance a été plus importante en leur présence. Dans le cas de SP95-E10, la quantité d'éthanol ajoutée (10mg/l) a été déterminante pour stimuler la multiplication cellulaire. Le pic de naphthalène à 13 mg, visible lors de la cinétique de solubilisation de cette essence lors des 3 premières heures (partie C- chapitre 2.2.2), n'est nullement pénalisant au point de vue macroscopique pour la population. Pour le gazole, la présence de ce composé sur une durée plus longue jusqu'à la 35^{ème} heure se traduirait-elle par un effet inhibiteur qui contribuerait ainsi à une moindre croissance ? Cette hypothèse semble peu probable : le naphthalène est un HAP biodégradable, il est métabolisé par des sédiments initialement non contaminés dès la 12^{ème} heure de contact et dès l'ajout pour des sédiments préalablement contaminés (Langworthy et al. 1998).

Tableau C.12. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout de gazole.
Nombre de colonies et rapport des populations entre eau + gazole et témoin (HC/Eau)

Temps(h)	Garonne		Gazole		HC/Eau
	Concentration (UFC/mL)	Ecart-type(%)	Concentration (UFC/mL)	Ecart-type(%)	
1	1520	7,4	1710	4,1	1,1
2	1710	7,4	1290	1,1	0,8
4	3500	4,0	1820	3,1	0,5
6	1920	8,8	2120	5,1	1,1
24	23900	5,0	25700	0,6	1,1
48	19900	5,2	30400	2,7	1,5

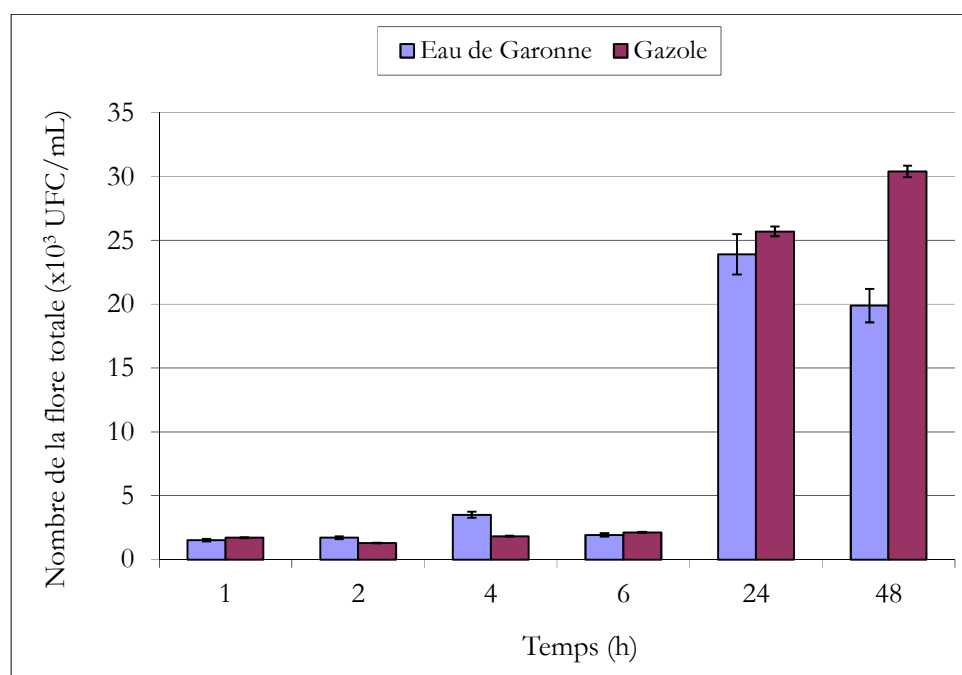


Figure C.16. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout de gazole dans l'eau de Garonne

Tableau C.13. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout de SP98
Nombre de colonies et rapport des populations entre eau + SP98 et témoin (HC/Eau)

Temps(h)	Garonne		SP98		HC/Eau
	Concentration (UFC/mL)	Ecart-type(%)	Concentration (UFC/mL)	Ecart-type(%)	
1	1513	3,8	2750	0,5	1,8
2	2740	5,2	2650	3,3	1,0
4	1770	7,2	2630	2,4	1,5
6	3130	5,9	2180	7,8	0,7
24	13200	9,3	24300	5,7	1,8
48	66300	3,6	69800	0,8	1,1

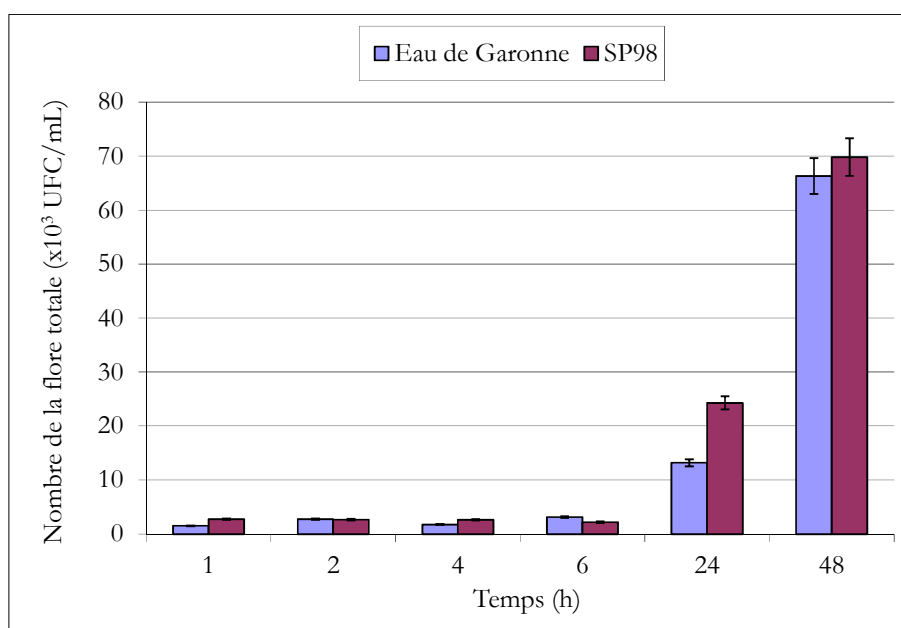


Figure C.17. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout de SP98 dans l'eau de Garonne

Tableau C.14. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout de SP95-E10.
Nombre de colonies et rapport des populations entre eau + SP95-E10 et témoin (HC/Eau)

Temps(h)	Garonne		SP98		HC/Eau
	Concentration (UFC/mL)	Ecart-type(%)	Concentration (UFC/mL)	Ecart-type(%)	
1	1190	1,2	1290	9,9	1,1
2	1146	9,0	1200	9,0	1,1
4	1070	9,3	1070	9,9	1,0
6	1260	11,2	1240	6,8	1,0
24	24800	1,1	58400	7,7	2,4
48	64800	7,0	276000	6,8	4,3

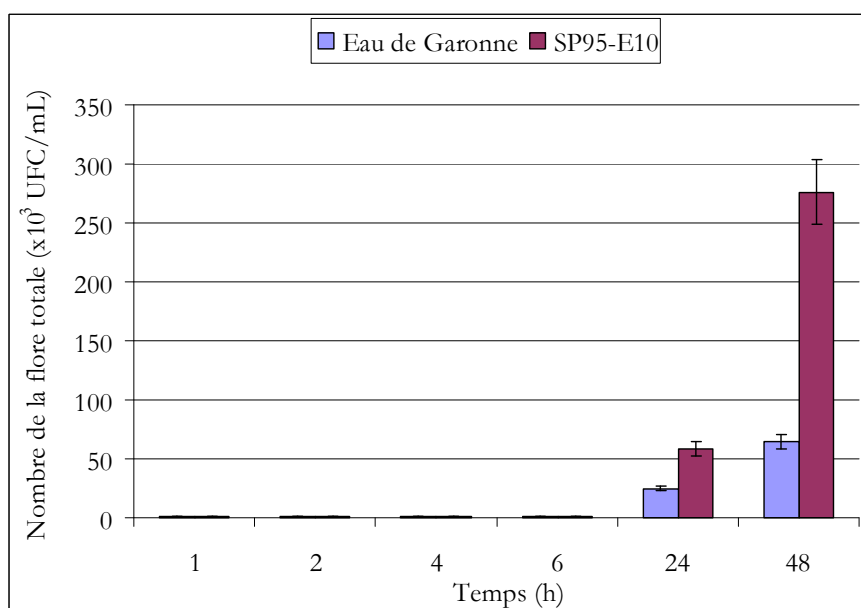


Figure C.18. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout de SP95-E10 dans l'eau de Garonne

La même expérience a été réalisée, en parallèle, pour les 3 hydrocarbures à partir d'un même prélèvement d'eau de Garonne. Sur cette base commune, le suivi a été effectué jusqu'à 72h, compte tenu de la croissance observée lors des essais antérieurs à 48h.

Les résultats indiquent la même tendance que précédemment (Tableau C.15 et Figure C.19). Pour SP95-E10, le développement bactérien est toujours très nettement supérieur, 4 fois plus important à 24h, et s'accroît à 48h jusqu'à atteindre 8 fois celui du gazole et 6,5 fois celui de SP98. A 72h, le nombre de bactéries diminue et tend à se niveler pour tous les carburants.

En condition batch, dans les béchers, au-delà de la première journée, une limitation nutritionnelle en composé carboné peut expliquer la diminution de la population tant dans le témoin que pour SP98 et gazole. Pour SP95-E10, la présence d'éthanol, composé aisément métabolisable, favorise la croissance sur une plus longue durée. La DBO de l'eau de Garonne est inférieure à 3mg/L (part C- chapitre 2). Ce niveau de concentration ne constitue pas une réserve suffisante pour subvenir aux besoins nutritionnels de cellules en croissance même à faible concentration et les composés le plus aisément assimilables dans les autres carburants ont déjà, semble-t-il, été consommés. En état de carence, la population bactérienne diminue très rapidement. Le seuil de biodégradation rapide est franchi. Une analyse à l'issue de cette première étape, pourrait permettre d'évaluer si les bactéries de l'eau de rivière possèdent des capacités de biodégradation significative vis-à-vis du naphthalène durant la phase de croissance observée. L'impact chimique du SP95-E10 et du gazole, et celui un peu plus faible du SP98 est-il atténué ? Des dosages, effectués sur des sédiments de rivières pollués par de la créosote, ont montré que seuls le naphthalène et l'acénaphthylène n'étaient jamais détectés sur un panel de 16 HAP identifiés représentant 63 % des HAP totaux. Les quantités de phénanthrène et de chrysène demeurent assez élevées. Ces composés semblent récalcitrants.

Dans la bibliographie, les essais de biodégradations sont effectués avec des sédiments, plus rarement avec des isolats issus de sédiments, ou des souches de collection, mais toujours en milieu marin. La croissance et la biodégradation sont moindres dans l'eau que dans les sédiments (Xia et al. 2006). Nous n'avons trouvé qu'une seule étude d'écologie microbienne concernant la pollution par HAP et sa biodégradation dans des eaux fluviales. Langworthy et al. (1998) ont observé les effets d'une pollution par des hydrocarbures polycycliques sur des sédiments de rivière. Par des prélèvements en amont et en aval d'une source de contamination, ils ont montré que ce type de pollution ne modifie pas plus la composition de la communauté microbienne des sédiments que les variations saisonnières naturelles.

Tableau C.15. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout des hydrocarbures. Nombre de colonies et rapport des populations entre eau+hydrocarbure et témoin (HC/Eau)

Temps (h)	Concentration (UFC/mL)				Rapport HC/Eau		
	Garonne	Gazole	SP98	SP95-E10	Gazole	SP98	SP95-E10
1	1010	1040	1050	1040	1,0	1,0	1,0
24	23900	25700	31933	108000	1,1	1,3	4,2
48	14200	16000	20200	129800	1,1	1,4	9,1
72	4060	6740	6690	11440	1,7	1,6	2,8

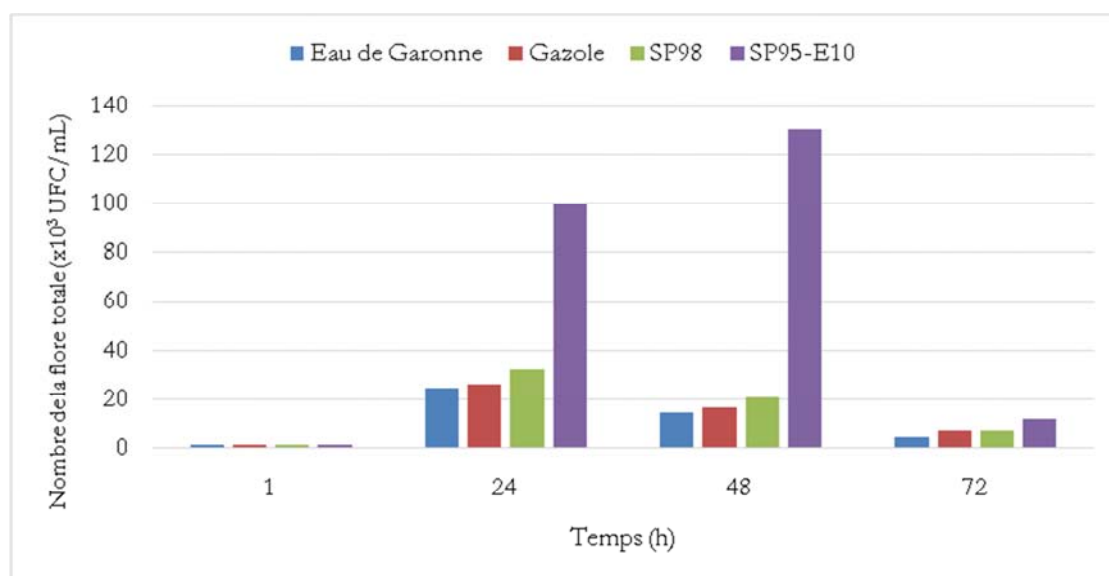


Figure C.19. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout des hydrocarbures dans l'eau de Garonne

En conclusion, les deux jours suivants, l'ajout des carburants s'accompagne d'une croissance microbienne de même magnitude, même légèrement plus élevée, que celle observée pour l'eau de Garonne dans les cas du gazole et de SP98. L'éthanol présent dans SP95-E10, soluble et assimilable par les bactéries, permet une augmentation nettement plus importante de la population (plus de 4 fois). Globalement, pour la concentration testée de 100mg/L, la concentration cellulaire viable n'a pas été affectée par la pollution aux HAPs induite.

3.2.2 Evolution de la quantité d'ATP libre dans le milieu après ajout des hydrocarbures

L'ATP a été choisi comme traceur de la lyse cellulaire pour estimer la mortalité induite par la présence d'hydrocarbures dans l'eau fluviale.

La mesure, cette fois, n'est plus spécifique des bactéries hétérotrophes. Elle rend compte du relargage de l'ATP de tous les organismes vivants présents dans le fleuve. Cependant la proportion de bactéries dans l'eau fluviale vive est telle, en regard des autres règnes microbiens, que le dosage est représentatif et caractéristique de leur réponse.

Le Tableau C.16 récapitule les données obtenues sur une moyenne de trois échantillons par hydrocarbures et indique le rapport entre la valeur mesurée pour l'échantillon contaminé et celui correspondant pour l'eau de Garonne témoin. On s'affranchit ainsi de certaines disparités liées aux différentes dates de prélèvement. La fréquence des mesures ne permet pas de mener tous les essais en parallèle.

Il apparaît que la présence de SP95-E10 ne modifie pas le comportement naturel du système. En regardant l'évolution de la lumière émise au cours du temps, les courbes se superposent (Figure C.20). Le ratio entre hydrocarbure et témoin reste très proche de 1.

Gazole et SP98 semblent induire un stress négatif dès la première heure. Toutefois, l'émission de photons n'excède jamais un facteur de 1,5 par rapport à la luminescence mesurée en parallèle pour l'eau de Garonne non polluée. Pour ces deux hydrocarbures, le signal se stabilise rapidement et se maintient ainsi légèrement supérieur à celui de l'eau.

Il faut souligner que le taux de population bactérienne global est très faible dans le milieu naturel, entre 1000 et 2000 UFC/ml. Des essais préliminaires effectués après 24h ne montraient pas plus de relargage à 24h sur une population 10 fois plus élevée. Cette estimation de l'ATP extracellulaire ne met pas en évidence une lyse importante des cellules pour une population ayant un fonctionnement métabolique normal.

Le même essai a été réalisé sur une eau stockée pendant 3 mois à 4°C en ajoutant le gazole.

Tableau C.16. Quantité d'ATP libre dans l'eau de la Garonne après ajout des hydrocarbures et comparaison par rapport au témoin

Temps (h)	ATP (RLU)				Rapport de HC/Eau		
	Garonne	Gazole	SP98	SP95-E10	Gazole	SP98	SP95-E10
0	12263	12263	12263	12263	1,0	1,0	1,0
0,25	12203	9736	16296	12060	0,8	1,3	1,0
0,5	10117	14265	10745	10358	1,4	1,1	1,0
0,75	8654	12968	11765	10232	1,5	1,4	1,2
1	7438	9288	9047	7401	1,2	1,2	1,0
1,5	6571	8915	6845	6384	1,4	1,0	1,0
2	5884	9405	8657	6415	1,6	1,5	1,1
2,5	6223	9156	7649	7349	1,5	1,2	1,2
3	5726	8756	8113	6429	1,5	1,4	1,1

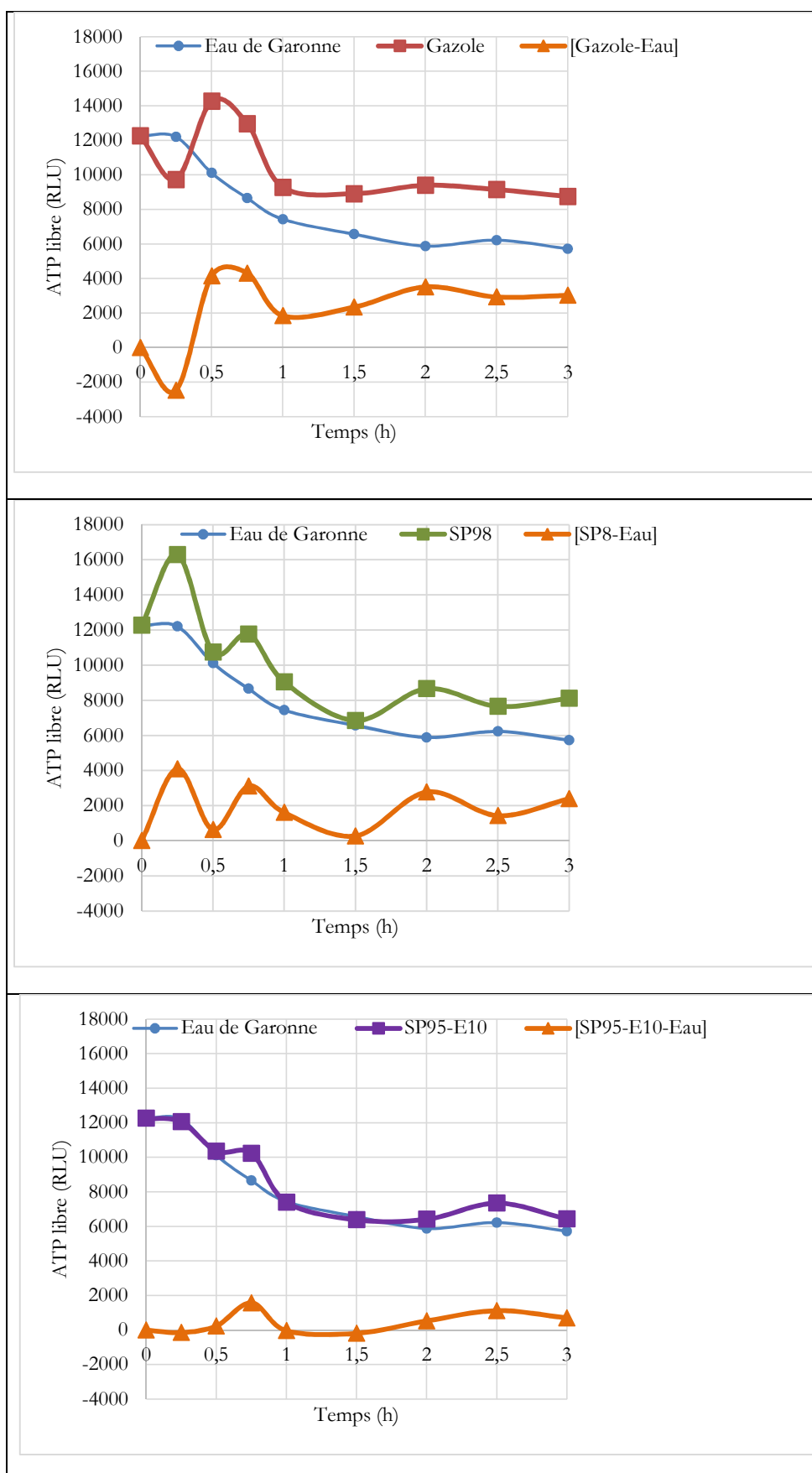


Figure C.20. Suivi de l'évolution de la concentration en ATP libre dans le milieu après ajout des hydrocarbures. (tracé direct et différence eau/hydrocarbure – témoin)

Le dosage de l'ATP dans l'eau de Garonne après 3 mois de stockage à 4°C indique une intensité de 5867 RLU pour un écouvillon totalement imprégné à 100µl. Le stockage avait été effectué le jour du prélèvement. Cette valeur rémanente peut être considérée comme un bruit de fond lié à la matrice : eau + population résiduelle en état latent, le stockage au froid réduisant l'activité et donc le niveau énergétique dans les cellules. Cette valeur indique que la quantité de lumière, détectée dans l'eau par le luminomètre, se stabilise à une valeur d'équilibre en moins de 4h après le prélèvement, et moins de 2 heures après le début des tests. Les béchers sont remplis dès le prélèvement effectué, 2 heures avant le début des essais afin que la température s'équilibre avec celle de la pièce. A T=2h, on enregistre dans l'eau fraîche une valeur du même ordre de grandeur proche de 6400 RLU. Les contraintes de sécurité du laboratoire n'ont pas permis de faire la même mesure dans l'eau polluée, le mélange devant être obligatoirement maintenu sous la hotte.

L'ajout de gazole sur cette eau stockée a été réalisé avec 100µl d'échantillon pour améliorer la sensibilité. Cette fois, le rapport observé entre la lumière mesurée pour le mélange et celui de l'eau au moment de l'ajout varie très significativement (Tableau C.17)

Tableau C.17. Rapport entre la quantité d'ATP libre dans l'eau après ajout de gazole et celle de l'eau de Garonne après un stockage du prélèvement d'eau de 3 mois à 4°C.

Temps (h)	0	0.25	0.75	1	2
Rapport HC/Eau stockée à To (100µl)	1	3.8	21	37	10
Rapport HC/eau « fraîche » à To (100µl)	1	1.26	-	3.77	1.15
Rapport HC/eau « fraîche » (80 µl)	1	0.8	1.16	0.75	0.77

Le Tableau C.17 compare les données à celles de 2 échantillons d'eau non stockée, prélevée et testée le jour même. Toutes les données sont traitées en ramenant l'intensité lumineuse au temps t à la lumière émise par l'échantillon à to. Dans le bécher contenant le gazole dans l'eau stockée, la valeur du rapport, hydrocarbure (t) / témoin (to), atteint 20 pour 45 min et excède 30 pour 1h. Il ne dépasse pas 4 pour une eau testée le jour même du prélèvement.

En présence de l'hydrocarbure, il semble que la population en état ralenti stationnaire ne peut récupérer ses activités métaboliques correctement et se lyse au moins partiellement. Les bactéries relarguent alors de l'ATP intracellulaire dans le milieu. En revanche celles ayant un état physiologique normal dans l'eau fluviale résistent. Sur l'eau stockée, l'influence de l'hydrocarbure se traduit par une différence significative du test de luminescence. Il n'a pas été possible dans le temps imparti de renouveler l'essai et de le compléter en ajoutant des éléments nutritifs pour vérifier qu'une limitation nutritive ne provoque cette réponse en freinant la reprise du

métabolisme cellulaire. Néanmoins dans ces conditions la différence d'ATP a été clairement observée.

L'étude de la fraction soluble des HAP dans l'eau de Garonne (Part C-Chapitre II) démontre que le taux de HAP totaux solubles augmente dans l'heure qui suit l'injection, pour atteindre son maximum avant de décroître rapidement pour le SP98 et le SP95-E10. Il semblerait donc qu'un apport brusque des hydrocarbures, et donc des HAP solubles, dans une eau « fraîche » ne provoque pas une surmortalité des bactéries dans les premières heures de contact comme observée dans le cas du stockage.

Lors de la 1^{ère} heure, la concentration en naphthalène est 4 à 5 fois plus importante pour le SP95-E10 que pour les deux autres hydrocarbures. Aucun impact, même minime n'a été perçu. Aucune modification n'a été décelée pour cette essence. Pour le gazole, le phénanthrène adsorbé durant les premières heures ne peut être responsable de la légère augmentation de la concentration d'ATP dans l'eau. Les constituants plus lourds du gasoil pourraient induire ce phénomène.

Hammes et al. 2010 ont démontré la part non négligeable de l'ATP extracellulaire dans l'étude des populations microbiennes naturelles de milieux aquatiques. Aussi avons-nous retenu ce paramètre d'estimation de la réponse immédiate des cellules au déversement des hydrocarbures. Le seuil indiqué est de 10^{-4} nM d'ATP pour une réponse fiable. Sur la base d'une teneur moyenne en ATP de 1 fg/bactérie (Stanley 1989), cela correspond à une différence de 53 cell/ml. Le luminomètre à notre disposition ne permet pas d'obtenir une sensibilité aussi grande. Les différences, même si elles semblent indiquer une tendance, restent dans la limite de précision expérimentale de la mesure et ne sont pas assez significatives. Le dosage de l'ATP avec un luminomètre d'un modèle ayant une chambre de mesure pour une suspension en solution et (ou) plus récent devrait améliorer la sensibilité et permettre ainsi d'abaisser le seuil de détection pour mieux estimer les variations et statuer sur la base de résultats probants.

Pour conclure, en termes de mortalité induite immédiate, l'ajout du carburant dans une eau fraîchement prélevée, représentative du fleuve, n'a qu'un impact qui semble très limité pour le gazole et le SP98, et neutre pour le SP95-E10. En revanche une population bactérienne au métabolisme ralenti par le froid subit une mortalité importante.

4 CHAPITRE IV. CONCLUSION

La dissolution est un processus d'échange important menant à la destruction primaire d'hydrocarbures dans les systèmes aquatiques par biodégradation. Des expérimentations à l'échelle du laboratoire ont été réalisées pour étudier l'effet de quatre paramètres environnementaux (température, matières en suspension, salinité et ratio de surface) sur la solubilité des HAP lorsque les produits pétroliers sont déversés en milieu aqueux. La mise au point d'un protocole expérimental pour évaluer le comportement de solubilité des HAP a été effectuée. Huit produits pétroliers ont été étudiés et 41 hydrocarbures et leurs dérivés (HAP) aromatiques polycycliques ont été contrôlés en quantifiant les composés solubles dans l'eau. La fraction soluble dans l'eau reste très faible et est dominée par les HAP de faible poids moléculaire comme les naphthalènes.

La méthodologie Taguchi a conduit à distinguer trois groupes d'hydrocarbures; (i) le fioul domestique et le kérosène, dont les solubilités sont très sensibles aux quatre paramètres étudiés, (ii) l'essence (SP95-E10) et le gazole, avec une sensibilité modérée, (iii) l'essences (SP98 et E85), le fioul lourd et le bitume ayant une plus faible sensibilité aux paramètres étudiés. En définitive, la température de l'eau, le ratio de surface de la nappe et les matières en suspension dans l'eau, apparaissent comme les paramètres les plus significatifs, affectant la fraction soluble des HAP, en particulier pour le fioul domestique, le kérosène, le gazole et l'essence E10.

L'eau prélevée sur la Garonne présente un taux de MES de 29,7 mg/L et un pH proche de 7.

Les MES sont impliquées dans les processus de diffusion des polluants dans le milieu naturel, c'est pourquoi il est important d'évaluer leur implication dans le transfert des HAP en phase aqueuse.

Les essais en eau naturelle montrent que les masses de HAP transférées en phase aqueuse sont plus élevées que celles mesurées en eau milli-Q et s'accompagnent d'un temps de séjour plus important, en particulier lorsque la fraction est riche en phénanthrène. Les masses d'HAP transférés correspondent effectivement à la somme des masses solubilisées et des masses adsorbées sur les MES (puis désorbées lors de l'analyse). La contribution des HAP adsorbés vis-à-vis de la totalité de la fraction en phase aqueuse n'est donc pas négligeable, car suite au pic de solubilisation, elle conduit à doubler les concentrations résiduelles en HAP sur une durée de 20 à 40 heures.

Si la teneur en éthanol dans le carburant augmente la quantité totale d'HAP solubilisés, elle limite également le processus d'adsorption sur les MES et conduit à des masses solubilisées similaires à celles de l'essence classique. L'E85 ne génère donc pas d'impact environnemental spécifique.

L'influence sur la flore bactérienne d'un déversement accidentel d'hydrocarbure en eau fluviale a été évaluée en suivant le nombre total de micro-organismes viables aptes à se reproduire et en estimant la mortalité cellulaire induite par mesure d'ATP extracellulaire.

Pour les trois carburants testés, gazole, SP98 et SP95-E10, une croissance bactérienne suit l'addition dans l'eau. Comparées à l'évolution dans le témoin, les populations se développent de manière quasi équivalente pour le gazole et légèrement supérieure pour SP98, le rapport reste toujours inférieur à 2 pour des niveaux de concentrations très faibles (de l'ordre 10^3 UFC/ml). La croissance est significativement plus élevée avec SP95-E10, favorisée par la quantité d'éthanol présente dans l'essence.

L'ajout des HAP dans le milieu récepteur ne semble pas provoquer une mortalité immédiate supplémentaire significative si l'eau est prélevée le jour même et donc représentative de celle du fleuve. Par contre la pollution d'une eau stockée au froid depuis plusieurs semaines provoque la lyse des bactéries dont le métabolisme a été ralenti.

5 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abrajano T.A.Jr, Yan B., et al. (2003). "High-Molecular-Weight Petrogenic and Pyrogenic Hydrocarbons in Aquatic Environments." In *Treatise on Geochemistry* 9: 1-50.
- Amir S., Hafidi M. et al. (2005). "Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons during composting of lagooning sewage sludge" *Chemosphere* 58(4): 449-458
- Arulazhagan P., Vasudevan N., et al. (2010). "Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a halotolerant bacterial consortium isolated from marine environment." *International Journal of Environmental Science & Technology*. 7(4): 639-652.
- Chen J., Wong M.H., et al. (2008). "Multi-factors on biodegradation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by *Sphingomonas* sp. a bacterial strain isolated from mangrove sediment." *Marine Pollution Bulletin* 57(6-12): 695-702.
- Coulon F., MacKew B.A., et al. (2007). "Effects of temperature and biostimulation on oil-degrading microbial communities in temperate estuarine waters." *Environmental Microbiology* 9(1): 177-186.
- Eyda H.S.C. and Pedersen K.(2007). "Use of an ATP assay to determine viable microbial biomass in Fennoscandian Shield groundwater from depths of 3-1000 m." *Journal of Microbiological Methods* 70(2): 363-373.
- Foladori P., Bruni L., et al. (2010). "Direct quantification of bacterial biomass in influent, effluent and activated sludge of wastewater treatment plants by using flow cytometry." *Water Research* 44(13): 3807-3818.
- Gobas F. and MacLean L.G. (2003). "Sediment-water distribution of organic contaminants in aquatic ecosystems: The role of organic carbon mineralization." *Environmental Science & Technology* 37(4): 735-741.
- Grégori G., Denis M., et al. (2003). "Viabilité des bactéries hétérotrophes dans la baie de Marseille." *Compte Rendu Biologies*. 326(8): 739-750.
- Hammes F., Goldschmidt F., et al. (2010). "Measurement and interpretation of microbial adenosine tri-phosphate (ATP) in aquatic environments." *Water Research* 44 (13): 3915-3923.
- Hara A., Syutsubo K., et al. (2010). "Alcanivorax which prevails in oil-contaminated seawater exhibits broad substrate specificity for alkane degradation." *Environmental Microbiology* 5(9): 746-753.
- Harkey, G. A., Landrum P.F., et al. (1994). "Comparison of whole-sediment, elutriate and pore-water exposures for use in assessing sediment-associated organic contaminants in bioassays." *Environmental Toxicology and Chemistry* 13(8): 1315-1329.
- Joachimsthal E.L., Ivanov V., et al. (2003). "Flow cytometry and conventional enumeration of microorganisms in ships' ballast water and marine samples." *Marine Pollution Bulletin* 46(3): 308-313.
- Josset S., Keller N., et al. (2008). "Numeration methods for targeting photoactive materials in the UV-A photocatalytic removal of microorganisms." *Chemical Society Reviews*. 37: 744-755.
- Kucnerowicz F. and Verstraete W. (1979). "Direct measurement of microbial ATP in activated sludge samples." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 29(11): 707-712
- Langworthy D.E., Stapleton R.D., et al. (1998). "Genotypic and phenotypic responses of a riverine microbial community to polycyclic aromatic hydrocarbon contamination." *Applied and Environmental Microbiology* 64(9): 3422-3428.
- Meybeck, M., Laroche L., et al. (2003). "Global variability of daily total suspended solids and their fluxes in rivers." *Global and Planetary Change* 39(1-2): 65-93.

- Periáñez, R., Abril J.M., et al. (1996). "Modelling the suspended matter distribution in an estuarine system. Application to the Odiel river in southwest Spain." *Ecological Modelling* 87(1–3): 169-179.
- Rodier J., Legube B., et al., Eds. (2009). "L'analyse de l'eau" Dunod Paris.
- Stanley P.E. (1989). "A review of bioluminescent ATP techniques in rapid microbiology." *Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence*. 4(1): 375-380.
- Teramoto M., Suzuki M., et al. (2010). "The potential of *Cyclocatulus* and *Altererythrobacter* strains for use in bioremediation of petroleum-aromatic-contaminated marine environments." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 110(1): 48-52.
- Timmis K.N., Ed. (2010). *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Viamajala S., Peyton B.M., et al. (2007). "Solubilization, solution equilibria, and biodegradation of PAHs under thermophilic conditions." *Chemosphere* 66(6): 1094-1106.
- Wei X.Y., Sang L.Z., et al. (2009). "The effects of LMWOAs on biodegradation of multi-component PAHs in aqueous solution using dual-wavelength fluorimetry." *Environmental Pollution* 157(11): 3150-3157.
- Whitehouse, B. G. (1984). "The effects of temperature and salinity on the aqueous solubility of polynuclear aromatic hydrocarbons." *Marine Chemistry* 14(4): 319-332.
- Wohlsen T., Bates J., et al. (2006). "Evaluation of the methods for enumerating coliform bacteria from water samples using precise reference standards." *Letters in Applied Microbiology* 42(4): 350-356.
- Xia X.H., Yu H., et al. (2006). "Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the natural waters of the Yellow River: Effects of high sediment content on biodegradation." *Chemosphere* 65(3): 457-466.
- Zhou J.L. and Rowland S.A. (1997). "Interaction between hydrophobic pollutants and suspended particles in estuarine waters." *Water Research* 31(7): 1708-1718.

6 TITRE DES FIGURES

Figure C.1. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : Base kérosène.....	101
Figure C.2. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : Gazole	101
Figure C.3. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : Fioul domestique	102
Figure C.4. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : SP95-E10 et E85	102
Figure C.5. Paramètres significatifs issus du plan d'expériences : SP98, Fioul lourd et Bitume...	103
Figure C.6. Coefficients d'impacts environnementaux vers la fraction soluble de la somme des HAP dans l'eau	104
Figure C.7. Coefficients d'impacts environnementaux vers la fraction soluble des composés dans l'eau.....	105
Figure C.8. Chromatogrammes (HRGC-MS analyse en SIM mode) des fractions solubles après 24h de mise en contact. a) après dépôt de gazole. b) après dépôt de SP98. c) après dépôt de SP95-E10. d) après dépôt d'E85.	110
Figure C.9. Cinétiques de solubilisation en eau de Garonne	111
Figure C.10. Détermination de la masse de HAP solubilisés (ng) dans l'eau de Garonne. a) après dépôt de SP98. b) après dépôt de SP95-E10. c) après dépôt d'E85. d) après dépôt de gazole....	112
Figure C.11. Concentration en HAP dans l'eau de Garonne et en eau milli-Q. a) après dépôt de SP98. b) après dépôt de SP95-E10. c) après dépôt d'E85. d) après dépôt de gazole.....	113
Figure C.12. Schéma du principe de la réaction luminescente pour le dosage d'ATP.....	117
Figure C.13. Schéma du protocole expérimental pour le dénombrement des bactéries sur gélose nutritive.....	122
Figure C.14. Matériel utilisé pour les essais d'étalement sur milieu solide.....	123
Figure C.15. ATPmétrie : luminomètre (CHARM SCIENCES INC, USA) et test PocketSwap plus	124
Figure C.16. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout de gazole dans l'eau de Garonne	126
Figure C.17. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout de SP98 dans l'eau de Garonne	127
Figure C.18. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout de SP95-E10 dans l'eau de Garonne	128
Figure C.19. Dénombrement sur milieu solide de la flore bactérienne (UFC/ml) après ajout des hydrocarbures dans l'eau de Garonne.....	130
Figure C.20. Suivi de l'évolution de la concentration en ATP libre dans le milieu après ajout des hydrocarbures. (tracé direct et différence eau/hydrocarbure – témoin)	132

7 TITRE DES TABLEAUX

Tableau C.1. Dimension de la table de Taguchi	97
Tableau C.2. Plan d'expériences	98
Tableau C.3. Récapitulatif des pesées et calculs des MES.....	99
Tableau C.4. Analyses physico-chimiques	108
Tableau C.5. Prélèvements des essais cinétiques en eau de Garonne.....	109
Tableau C.6. Qualités physico-chimiques exigées	109
Tableau C.7. Comparaison de différentes méthodes de numération directe (d'après Josset et al. 2008).....	116
Tableau C.8. Tableau récapitulatif de différentes études sur les techniques de quantification des micro-organismes dans des eaux fluviales ou marines.....	118
Tableau C.9. Méthodes d'estimation de la population pour des travaux de biodégradation d'hydrocarbures.	119
Tableau C.10. Composition de la gélose Trypcase-Soja	122
Tableau C.11. Validation de la méthode absorption par l'écouvillon – ATP pour 100 μ L.....	124
Tableau C.12. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout de gazole. Nombre de colonies et rapport des populations entre eau + gazole et témoin (HC/Eau)	126
Tableau C.13. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout de SP98 Nombre de colonies et rapport des populations entre eau + SP98 et témoin (HC/Eau)	127
Tableau C.14. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout de SP95-E10. Nombre de colonies et rapport des populations entre eau + SP95-E10 et témoin (HC/Eau)	128
Tableau C.15. Dénombrement des bactéries hétérotrophes dans l'eau de Garonne après ajout des hydrocarbures. Nombre de colonies et rapport des populations entre eau+hydrocarbure et témoin (HC/Eau).....	129
Tableau C.16. Quantité d'ATP libre dans l'eau de la Garonne après ajout des hydrocarbures et comparaison par rapport au témoin	131
Tableau C.17. Rapport entre la quantité d'ATP libre dans l'eau après ajout de gazole et celle de l'eau de Garonne après un stockage du prélèvement d'eau de 3 mois à 4°C.	133

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les pollutions aux hydrocarbures dans les eaux continentales sont en pleine croissance avec une moyenne, sur la période 2008-2010, d'un déversement toutes les 40 heures (Bonnemains et al. 2011). Les accidents les plus souvent identifiés résultent d'erreurs de manipulations, de fuites accidentelles de citernes domestiques ou industrielles, de fuites de stations-services, d'accidents de camions, de dégazages volontaires ou accidentels de bateaux fluviaux... (Gouriou 2012). L'application de la Directive Cadre sur l'Eau et l'obligation de surveillance de la qualité d'eau pour la consommation humaine et les activités récréatives ou industrielles entraînent une forte demande pour des systèmes d'évaluation et de suivi de la qualité de l'eau. Depuis 2009, le projet Migr'hycar (MIGRation de nappes d'HYdroCARbures), financé par l'ANR dans le cadre du programme PRECODD, réunit sept partenaires. Il vise au développement et à la mise au point d'un outil de gestion des risques liés aux nappes d'hydrocarbures d'origine accidentelle dans les milieux fluviaux et estuariens. Les recherches effectuées dans le cadre de cette thèse se sont inscrits dans ce projet de recherche. Les travaux ont été réalisés au sein du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle et du Laboratoire de Génie Chimique et avaient pour objectif l'étude du comportement des nappes d'hydrocarbures en milieu contrôlé pour les eaux continentales.

Dans la première partie, une synthèse bibliographique sur les hydrocarbures a été réalisée avec une présentation des hydrocarbures pétroliers et des biocarburants. Un focus sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les méthodes analytiques associées a été réalisé. Cette partie a permis de mettre en évidence un manque de données disponibles sur la caractérisation des déversements d'hydrocarbures dans les eaux continentales, notamment la qualité des eaux associée.

La seconde partie a été consacrée à la caractérisation des hydrocarbures et à l'étude de leur comportement à l'échelle de la colonne d'eau. Différents hydrocarbures, d'usage commun, ont été étudiés : fioul lourd, bitume, fioul domestique, kérosène, gazole, essence SP98, essence SP95-E10, essence E85. Ils ont été caractérisés en termes de densité, viscosité, taux d'évaporation maximale et teneurs en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Il en ressort que le fioul domestique, le gazole et le fioul lourd sont les hydrocarbures les plus riches en HAP à l'état initial. Le bitume est celui dont la concentration en HAP est la plus faible. Les trois essences (SP98, SP95-E10 et E85) contiennent surtout des composés mono-aromatiques et, malgré la présence de 10% d'éthanol, l'essence SP95-E10 contient davantage de HAP que l'essence SP98.

La mise au point d'un protocole expérimental pour évaluer le comportement de solubilité des HAP a été effectuée. Les courbes cinétiques montrent une teneur maximale des HAP dans l'eau, suivie d'une diminution de cette fraction soluble. Ce comportement peut être expliqué par la solubilisation des HAP combinée à l'évaporation des HAP de la nappe. Par la suite, la volatilisation partielle des HAP dissous se produit et affecte la partie principale de cette fraction. La cinétique et le maximum de solubilité dépendent de la nature des hydrocarbures pétroliers, en particulier la distribution relative des HAP. A l'échelle du polludrome, le ratio de surface hydrocarbure/eau agit sur la cinétique de solubilisation : celle-ci varie selon l'épaisseur de la couche d'hydrocarbure et est plus lente à mesure du processus de volatilisation. La comparaison

entre les résultats obtenus à l'échelle laboratoire et les résultats obtenus à l'échelle pilote montre clairement que les conditions dynamiques (eau et courant de vent) favorisent le processus d'évaporation des molécules les plus volatiles et retardent le moment de la solubilisation maximale. La fraction soluble dans l'eau reste très faible et est dominée par les HAP de faible poids moléculaire comme les naphthalènes.

L'addition de composés oxygénés miscibles à l'eau, tels que l'éthanol, augmente la solubilité globale des HAP. En fait, avec 10% d'éthanol dans l'essence, la solubilité de la plupart des composés hydrophobes est accrue (composés ayant le plus fort Kow). Ainsi, pour l'essence oxygénée, la distribution des HAP dissous est différente de celle de l'essence classique SP98. L'essence SP95-E10 génère une masse solubilisée plus abondante et persistante dans l'eau, de l'ordre de grandeur de celle du gazole.

Enfin, la cinétique de solubilisation des HAP s'accompagne d'une variation de la tension superficielle pendant les premières heures, pour tendre vers une valeur de tension superficielle proche de celle de l'eau. Cette variation s'opère sur une durée d'autant plus longue que la tension superficielle est initialement plus faible. Cette évolution ne peut pas être corrélée au pic de solubilisation, ce qui signifie que la tension superficielle ne dépend pas directement de la quantité de fraction soluble, mais plutôt de la capacité de l'hydrocarbure à passer dans la phase air. Ainsi, l'aptitude de l'hydrocarbure à réduire la tension superficielle semble plutôt liée à sa capacité à former un azéotrope avec l'eau ou avec l'éthanol, correspondant à des fractions solubles plutôt riches en phénanthrène (cas du SP95-E10, gazole et fioul domestique). Soulignons qu'une tension superficielle basse favorise le processus de volatilisation et limite la migration des hydrocarbures par capillarité. Ces deux aspects sont susceptibles de réduire l'impact environnemental d'une pollution. La tension superficielle pourrait donc être considérée comme un indicateur environnemental.

La troisième partie de ces travaux a été dédiée à l'étude des caractéristiques physico-chimiques des eaux continentales réelles sur le comportement des hydrocarbures. Dans un premier temps, l'étude de la solubilisation des hydrocarbures en fonction des paramètres caractéristiques du milieu (température, salinité, matière en suspension, ratio huile/eau) est réalisée via un plan d'expérience à l'échelle du laboratoire. La méthodologie de Taguchi a conduit à distinguer trois groupes d'hydrocarbures : (i) le fioul domestique et le kérosène, dont les solubilités sont très sensibles aux quatre paramètres étudiés, (ii) l'essence SP95-E10 et le gazole, avec une sensibilité modérée, (iii) les essences SP98 et E85, le fioul lourd et le bitume ayant une plus faible sensibilité aux paramètres étudiés. En définitive, la température de l'eau, le ratio de surface de la nappe et les matières en suspension dans l'eau, apparaissent comme les paramètres les plus significatifs, affectant la fraction soluble des HAP.

Ensuite, le comportement des hydrocarbures en eau naturelle de rivière est étudié. Les essais montrent que les masses de HAP transférées en phase aqueuse sont plus élevées que celles mesurées en eau ultra-pure et s'accompagnent d'un temps de séjour plus important. Les masses de HAP transférés correspondent effectivement à la somme des masses solubilisées et des masses adsorbées sur les matières en suspension (puis désorbées lors de l'analyse). La contribution des HAP adsorbés vis-à-vis de la totalité de la fraction en phase aqueuse n'est donc pas négligeable, car suite au pic de solubilisation, elle conduit à doubler les concentrations résiduelles en HAP sur

une durée de 20 à 40 heures. De plus, si la teneur en éthanol dans le carburant augmente la quantité totale de HAP solubilisés, elle limite également le processus d'adsorption sur les matières en suspension et conduit à des masses solubilisées similaires à celles de l'essence classique. L'essence E85 ne semble donc pas générer d'impact environnemental spécifique.

Enfin, une étude du comportement de la flore microbienne de l'eau de rivière en réaction à l'ajout d'un hydrocarbure, 100 mg/L, a été abordée pour trois hydrocarbures (gazole, essence SP98 et essence SP95-E10). Le suivi cinétique de la population bactérienne par dénombrement sur gélose nutritive montre qu'il n'y a pas d'influence négative sur le nombre de bactéries suivant l'injection de l'hydrocarbure. Aucun effet significatif sur la concentration en bactéries viables aptes à se reproduire n'a été observé durant les trois jours suivant l'addition des carburants. La quantification de l'ATP extracellulaire indique que les risques de lyse cellulaire se stabilisent dans l'heure qui suit l'ajout, phase où la teneur en HAP est la plus élevée. Tous les types de cellules vivantes sont pris en compte par cette méthode. Pour le niveau de pollution testé, cette première approche microbiologique n'indique pas un impact de nature à diminuer la concentration de la flore bactérienne dans la rivière.

En ce qui concerne **les perspectives à ce travail**, il nous semble pertinent de compléter les aspects cinétiques du comportement de la nappe polluante, développés dans le cadre du projet Migr'hycar.

Tout d'abord, il serait intéressant de mener une approche plus globale nécessitant une association de compétences entre physico-chimie et génie des procédés. Le couplage des connaissances physico-chimiques et connaissances en modélisation/simulation basée sur les propriétés thermodynamiques pourrait faire l'objet d'une collaboration entre le Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle et le département Procédés et Systèmes Industriels du Laboratoire de Génie Chimique. C'est pourquoi, un projet a été construit dans le cadre de l'appel « Toulouse Tech Inter-Labs » afin d'intégrer ces aspects thermodynamiques (basés sur les équilibres liquide-vapeur), dans la modélisation du comportement des hydrocarbures.

De plus, une attention particulière pourrait être portée à l'étude des phénomènes d'adsorption sur les matières en suspension et/ou les colloïdes, en fonction des caractéristiques du milieu naturel. L'objectif serait alors de prendre en compte le devenir des micropolluants, et de mettre en évidence leur mode d'élimination (désorption, séquestration, biodégradation ou formation de métabolites).

Annexe I

RESULTATS DES ESSAIS « CINETIQUE »
ET DES ESSAIS « BILAN MATIERE »

1. CINETIQUES DE SOLUBILISATION POUR UN DEPOT DE 10 ML DU GAZOLE

Tableau 1. Teneurs en HAP (somme des 41 composés) en µg/L

Temps (heures)	FOD	Gasoil	SP95	Kerosène	IFO 380
0	0,3	0,4	0,3	0,0	0,2
1	6,1	1,4	0,7	0,1	0,0
2	3,5	2,1	0,4	0,1	0,2
3	2,4	1,9	0,3	0,1	0,5
4			0,4		
5		0,1	0,5		0,2
6	2,8		0,5	0,1	
7			0,4		
8		0,1	0,2		0,3
9	1,3			0,2	
13			0,0		0,4
14	1,6			0,2	
24	0,5	0,1	0,0	0,1	1,5
27	0,4	0,2		0,0	2,6
30	0,2				2,1
33	0,2				3,0
48	0,5				4,2
51	0,3				4,8
54	0,4				4,5
57	0,0				4,7
72	0,3				3,9

2. BILAN MATIERES

Les résultats obtenus pour la somme des 41 HAP analysés et pour les HAP individuels (naphtalènes, phénanthrènes, chrysènes et dibenzothiophènes), indicateurs globaux de dissolution, sont présentés dans les Tableau 2 à Tableau 7 en pourcentage des fractions surnageante, dissoute et évaporée.

2.1. Somme des HAP

Tableau 2. Présentation des résultats en pourcentage dans les différentes fractions en sommes des HAP

	Temps (h)	% surnageant	% dissous	% évaporé
Gasoil	1,0	17,0	1,0	81,9
	3,0	15,7	0,8	83,5
	6,0	14,6	1,1	84,2
	10,0	13,1	1,3	85,6
	24,0	12,9	1,6	85,5
	48,0	5,1	0,8	94,1
Kérosène	1,0	46,2	1,5	52,3
	3,0	35,0	3,1	61,9
	6,0	17,0	5,4	77,7
	10,0	18,7	5,6	75,7
	24,0	4,0	6,6	89,4
	48,0	2,2	1,2	96,6
Fioul domestique	1,0	53,5	2,6	43,9
	3,0	42,4	3,3	54,3
	6,0	36,9	3,1	61,0
	10,0	32,9	4,1	63,0
	24,0	20,4	3,3	76,3
	48,0	18,7	1,6	79,8
Fioul lourd	1,0	37,0	1,8	61,1
	3,0	25,5	3,0	71,5
	6,0	24,5	3,3	72,2

	10,0	9,7	3,0	87,3
	24,0	21,1	3,3	75,6
	48,0	17,3	0,7	82,0
SP95-E10	1,0	10,7	3,5	85,8
	3,0	7,2	3,0	89,8
	6,0	7,2	2,5	90,3
	10,0	3,1	1,8	95,1
	24,0	3,5	1,3	95,2
	48,0	2,0	1,0	97,0
SP98	1,0	34,2	1,8	64,1
	3,0	26,1	1,6	72,3
	6,0	28,3	1,9	69,7
	10,0	16,0	1,3	82,7
	24,0	15,6	0,9	83,5
	48,0	3,1	0,6	96,3

2.2. Naphthalène

Tableau 3. Présentation des résultats en pourcentage dans les différentes fractions en sommes des naphthalènes

	Temps (h)	% surnageant	% dissous	% évaporé
Gasoil	1,0	13,9	0,2	85,8
	3,0	12,9	0,0	87,1
	6,0	12,3	0,2	87,5
	10,0	10,8	0,2	89,0
	24,0	10,3	0,1	89,6
	48,0	2,8	0,0	97,1
Base kérosène	1,0	45,6	0,5	53,9
	3,0	34,9	0,7	64,4
	6,0	16,7	0,8	82,5
	10,0	18,4	0,4	81,2

	24,0	3,8	0,1	96,1
	48,0	2,1	0,0	97,9
Fioul domestique	1,0	33,7	0,6	65,7
	3,0	22,9	0,6	76,5
	6,0	17,3	0,6	82,1
	10,0	16,3	0,5	83,2
	24,0	5,2	0,2	94,6
	48,0	2,7	0,0	97,3
Fioul lourd	1,0	18,1	0,3	81,6
	3,0	12,3	0,6	87,1
	6,0	11,1	0,7	88,2
	10,0	4,4	0,6	95,1
	24,0	7,2	0,2	92,5
	48,0	4,9	0,0	95,0
SP95-E10	1,0	10,7	1,3	88,0
	3,0	7,2	0,6	92,1
	6,0	7,2	0,6	92,2
	10,0	3,1	0,2	96,7
	24,0	3,4	0,1	96,5
	48,0	2,0	0,0	98,0
SP98	1,0	32,8	0,5	66,6
	3,0	25,9	0,4	73,7
	6,0	27,1	0,4	72,5
	10,0	15,9	0,3	83,8
	24,0	14,4	0,1	85,5
	48,0	3,0	0,0	97,0

2.3. Phénanthrène

Tableau 4. Présentation des résultats en pourcentage dans les différentes fractions en phénanthrène

	Temps (h)	% surnageant	% dissous	% évaporé
Gasoil	1,0	0,2	0,0	99,7
	3,0	0,2	0,0	99,8
	6,0	0,2	0,1	99,7
	10,0	0,2	0,2	99,6
	24,0	0,2	0,2	99,7
	48,0	0,2	0,2	99,7
Base kérosène	1,0	0,0	0,1	99,9
	3,0	0,0	0,2	99,7
	6,0	0,0	0,5	99,5
	10,0	0,0	0,5	99,5
	24,0	0,0	0,5	99,5
	48,0	0,0	0,1	99,9
Fioul domestique	1,0	4,8	0,0	95,1
	3,0	5,1	0,0	94,8
	6,0	4,7	0,1	95,3
	10,0	4,1	0,1	95,9
	24,0	3,7	0,1	96,2
	48,0	3,7	0,1	96,2
Fioul lourd	1,0	3,5	0,0	96,5
	3,0	2,4	0,1	97,5
	6,0	2,5	0,1	97,5
	10,0	1,0	0,1	98,9
	24,0	2,4	0,1	97,5
	48,0	2,1	0,1	97,8
SP95-E10	1,0	0,0	0,5	99,4
	3,0	0,0	0,6	99,4
	6,0	0,0	0,5	99,5

	10,0	0,0	0,4	99,6
	24,0	0,0	0,3	99,7
	48,0	0,0	0,2	99,8
SP98	1,0	1,0	0,3	98,7
	3,0	0,1	0,3	99,7
	6,0	1,0	0,4	98,7
	10,0	0,0	0,3	99,7
	24,0	1,0	0,2	98,8
	48,0	0,1	0,1	99,8

2.4. Benzo(a)pyrène

Tableau 5. Présentation des résultats en pourcentage dans les différentes fractions en benzo(a)pyrène

	Temps (h)	% surnageant	% dissous	% évaporé
Gasoil	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
Base kérosène	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
Fioul domestique	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0

	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
Fioul lourd	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
SP95-E10	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
SP98	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0

2.5. Dibenzothiophène

Tableau 6. Présentation des résultats en pourcentage dans les différentes fractions en sommes des dibenzothiophène

	Temps (h)	% surnageant	% dissous	% évaporé
Gasoil	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
Base kérosène	1,0	0,0	0,1	99,9
	3,0	0,0	0,1	99,9
	6,0	0,0	0,3	99,7
	10,0	0,0	0,6	99,4
	24,0	0,0	0,6	99,4
	48,0	0,0	0,3	99,7
Fioul domestique	1,0	0,6	0,0	99,3
	3,0	0,7	0,0	99,3
	6,0	0,6	0,1	99,3
	10,0	0,6	0,0	99,4
	24,0	0,5	0,1	99,4
	48,0	0,6	0,1	99,4
Fioul lourd	1,0	3,5	0,0	96,4
	3,0	2,2	0,0	97,8
	6,0	2,5	0,0	97,5
	10,0	1,0	0,0	98,9
	24,0	2,6	0,0	97,4
	48,0	2,3	0,0	97,7
SP95-E10	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0

	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
SP98	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0

2.6. Chrysènes

Tableau 7. Présentation des résultats en pourcentage dans les différentes fractions en sommes des chrysènes

	Temps (h)	% surnageant	% dissous	% évaporé
Gasoil	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
Kérosène	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
Fioul domestique	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0

	48,0	0,0	0,0	100,0
Fioul lourd	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0
SP95-E10	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,1	99,9
	6,0	0,0	0,1	99,9
	10,0	0,0	0,1	99,9
	24,0	0,0	0,1	99,9
	48,0	0,0	0,1	99,9
SP98	1,0	0,0	0,0	100,0
	3,0	0,0	0,0	100,0
	6,0	0,0	0,0	100,0
	10,0	0,0	0,0	100,0
	24,0	0,0	0,0	100,0
	48,0	0,0	0,0	100,0

Annexe II

ORDRE CHRONOLOGIQUE DES ESSAIS PAR PLAN D'EXPERIENCES

L'ordre chronologique des essais de la solubilisation des HAP en fonction des paramètres environnementaux est présenté sur le Tableau 1

Tableau 1. Ordre chronologique des essais

Numéro	Température	Hydrocarbure	Salinité	Taux de MES	Ratio
1	5°C	SP98	0	0	10%
2	5°C	SP98	10g/L	300mg/L	25%
3	5°C	SP98	35g/L	1000mg/L	50%
4	5°C	SP95-E10	0	0	10%
5	5°C	SP95-E10	10g/L	300mg/L	25%
6	5°C	SP95-E10	35g/L	1000mg/L	50%
7	5°C	Gazole	0	0	10%
8	5°C	Gazole	10g/L	300mg/L	25%
9	5°C	Gazole	35g/L	1000mg/L	50%
10	5°C	Kérosène	0	0	10%
11	5°C	Kérosène	10g/L	300mg/L	25%
12	5°C	Kérosène	35g/L	1000mg/L	50%
13	5°C	Fioul domestique	0	0	10%
14	5°C	Fioul domestique	10g/L	300mg/L	25%
15	5°C	Fioul domestique	35g/L	1000mg/L	50%
16	5°C	Fioul lourd	0	0	10%
17	5°C	Fioul lourd	10g/L	300mg/L	25%
18	5°C	Fioul lourd	35g/L	1000mg/L	50%
19	5°C	Bitume	0	0	10%
20	5°C	Bitume	10g/L	300mg/L	25%

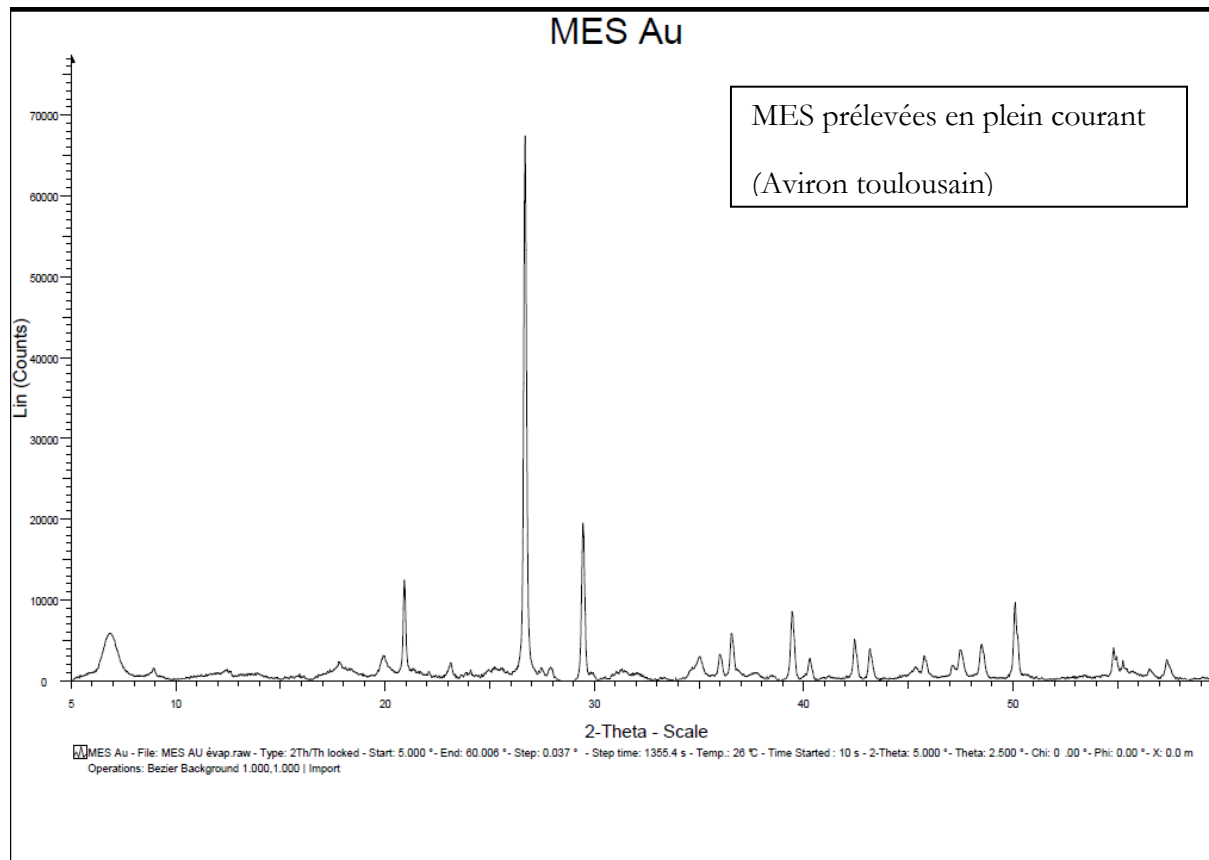
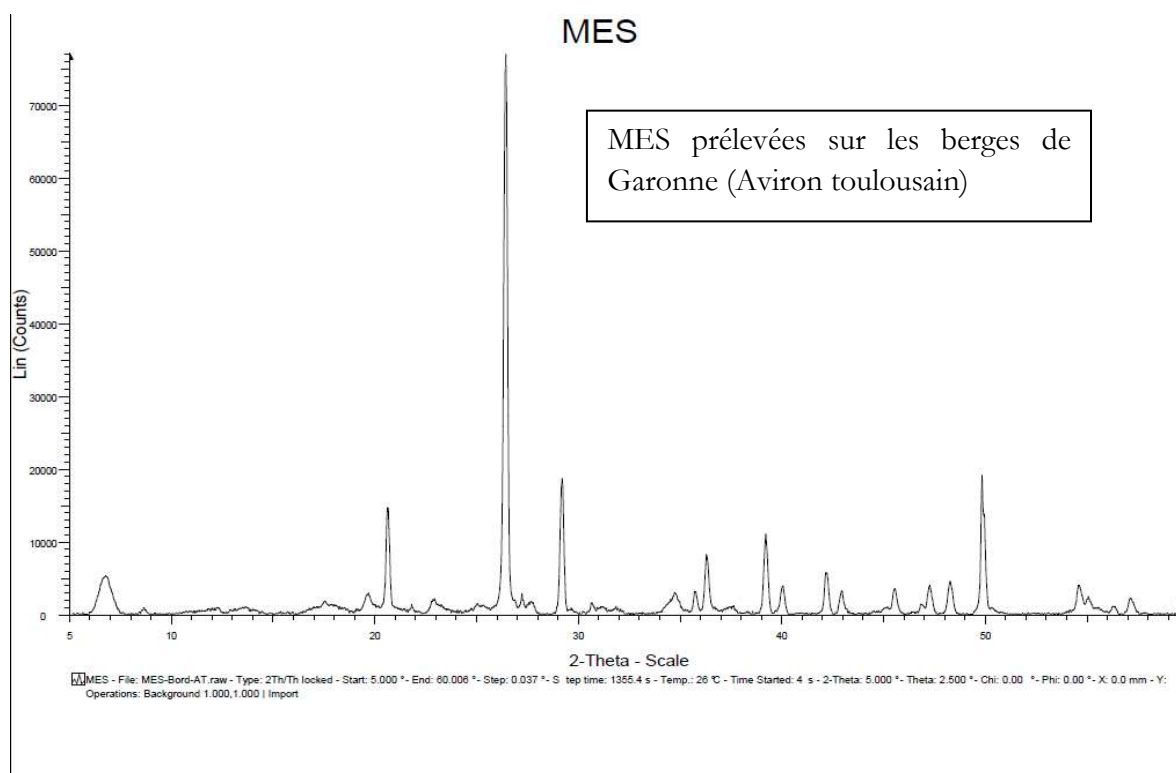
21	5°C	Bitume	35g/L	1000mg/L	50%
22	17°C	SP98	0	300mg/L	50%
23	17°C	SP98	10g/L	1000mg/L	10%
24	17°C	SP98	35g/L	0	25%
25	17°C	SP95-E10	0	300mg/L	50%
26	17°C	SP95-E10	10g/L	1000mg/L	10%
27	17°C	SP95-E10	35g/L	0	25%
28	17°C	Gazole	0	300mg/L	50%
29	17°C	Gazole	10g/L	1000mg/L	10%
30	17°C	Gazole	35g/L	0	25%
31	17°C	Kérosène	0	300mg/L	50%
32	17°C	Kérosène	10g/L	1000mg/L	10%
33	17°C	Kérosène	35g/L	0	25%
34	17°C	Fioul domestique	0	300mg/L	50%
35	17°C	Fioul domestique	10g/L	1000mg/L	10%
36	17°C	Fioul domestique	35g/L	0	25%
37	17°C	Fioul lourd	0	300mg/L	50%
38	17°C	Fioul lourd	10g/L	1000mg/L	10%
39	17°C	Fioul lourd	35g/L	0	25%
40	17°C	Bitume	0	300mg/L	50%
41	17°C	Bitume	10g/L	1000mg/L	10%
42	17°C	Bitume	35g/L	0	25%
43	28°C	SP98	0	1000mg/L	25%
44	28°C	SP98	10g/L	0	50%
45	28°C	SP98	35g/L	300mg/L	10%

46	28°C	SP95-E10	0	1000mg/L	25%
47	28°C	SP95-E10	10g/L	0	50%
48	28°C	SP95-E10	35g/L	300mg/L	10%
49	28°C	Gazole	0	1000mg/L	25%
50	28°C	Gazole	10g/L	0	50%
51	28°C	Gazole	35g/L	300mg/L	10%
52	28°C	Kérosène	0	1000mg/L	25%
53	28°C	Kérosène	10g/L	0	50%
54	28°C	Kérosène	35g/L	300mg/L	10%
55	28°C	Fioul domestique	0	1000mg/L	25%
56	28°C	Fioul domestique	10g/L	0	50%
57	28°C	Fioul domestique	35g/L	300mg/L	10%
58	28°C	Fioul lourd	0	1000mg/L	25%
59	28°C	Fioul lourd	10g/L	0	50%
60	28°C	Fioul lourd	35g/L	300mg/L	10%
61	28°C	Bitume	0	1000mg/L	25%
62	28°C	Bitume	10g/L	0	50%
63	28°C	Bitume	35g/L	300mg/L	10%

Annexe III

SPECTRES RX DES MES

Spectres RX des matières en suspensions prélevées sur la Garonne



Annexe IV

ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

1. DETERMINATION DU pH

Le protocole suivi est celui détaillé dans la norme NF T 90-008 « Qualité de l'eau Détermination du pH » de février 2001 (AFNOR, février 2001a). L'appareil utilisé est le pH mètre WTW pH330 comprenant une sonde de température intégrée. L'électrode est conservée dans une solution commerciale de KCl à 3 mol.L⁻¹ fournie par VWR pour son entretien. Les solutions tampons CertiPUR 4,01 et 7,00 à 25°C commercialisées par VWR sont utilisées pour étalonner l'appareil une fois par semaine. La mesure est réalisée au laboratoire dès que possible après le prélèvement, après avoir laissé revenir les échantillons à température ambiante.

2. DETERMINATION DE LA TEMPERATURE

La mesure de température est réalisée sur le terrain à l'aide d'un thermomètre numérique avec sonde en acier inoxydable (VWR).

3. DETERMINATION DE LA CONDUCTIVITE

Le protocole suivi est celui détaillé dans la norme NF EN 27888 « Qualité de l'eau – détermination de la conductivité électrique » de janvier 1994 (AFNOR, janvier 1994b). L'appareil utilisé est le conductimètre WTW 330 i équipé d'une cellule TETRACON 325. La solution de calibration est une solution de KCl à 0,01 mol.L⁻¹ soit 1 413 µS.cm⁻¹ à 25°C provenant de chez VWR. Elle est utilisée de façon hebdomadaire pour le contrôle de la constante de cellule grâce à la fonction de calibration automatique de l'appareil. Cet appareil est équipé d'un dispositif de compensation de température. La mesure est réalisée au laboratoire dès que possible après le prélèvement, après avoir laissé revenir les échantillons à température ambiante.

4. DETERMINATION DE LA TURBIDITE

Le protocole suivi est détaillé par la norme NF EN ISO 7027 (NF T 90-033) « Qualité de l'eau – Détermination de la turbidité » de mars 2000. L'appareil utilisé est le turbidimètre portatif modèle 2100P de chez HACH. Une solution commerciale (HACH) de formazine à 4000 NTU est utilisée pour la préparation de trois suspensions de concentrations 20, 100 et 800 NTU servant à l'étalonnage mensuel de l'appareil. Des étalons de contrôle à 2 et 10 NTU permettent de vérifier l'appareil chaque semaine.

5. DETERMINATION DE LA DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGENE (DCO)

La DCO a été déterminée à l'aide de tests rapides Spectroquant ® Merck. Deux gammes sont utilisées : 10-150 mg.L⁻¹ (référence 14540) et 25-1500 mg.L⁻¹ de DCO (référence 14541 ; utilisée pour des concentrations supérieures à 150 mg.L⁻¹). L'échantillon d'eau est oxydé avec une solution chaude de dichromate de potassium, d'acide sulfurique et de sulfate d'argent comme catalyseur. La concentration des ions Cr³⁺ verts formés pour la référence 14541 et la concentration des ions Cr₂O₇²⁻ jaunes non consommés pour la référence 14540 sont dosées par spectrophotométrie.

Un volume de 3 mL de l'échantillon est introduit dans le tube à essai contenant le réactif préalablement mis en suspension. Après agitation, le tube est placé dans un thermoréacteur à

148°C pendant 2 heures. Après réaction, le tube est refroidi à température ambiante et la mesure est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre SQ 118. Cette méthode est analogue à la norme ISO 15705 « Qualité de l'eau - Détermination de l'indice de demande chimique en oxygène (ST-DCO) - Méthode à petite échelle en tube fermé » de novembre 2002.

6. DETERMINATION DE LA DEMANDE BIOLOGIQUE EN OXYGENE (DBO_5)

Le protocole suivi est détaillé par la norme NF EN 1899-1 (NF T 90-103-1) « Qualité de l'eau - Détermination de la demande biologique en oxygène après n jours (DBOn) - Partie 1 » de mai 1998. Un volume d'échantillon est incubé à 20°C pour une durée de 5 jours, à l'obscurité, dans un flacon fermé. La concentration en oxygène dissous est déterminée avant et après incubation. Puis le calcul de la masse d'oxygène consommé par litre d'échantillon est réalisé.

7. DETERMINATION DE L'AZOTE TOTAL (N_T)

La détermination de l'azote total a été effectuée par somme de l'azote Kjeldahl, de l'azote nitreux et de l'azote nitrique. Ces dosages ont été effectués selon les normes NF EN 25663 « Qualité de l'eau – Dosage de l'azote Kjeldahl – Méthode après minéralisation au sélénium » de janvier 1994 (AFNOR, janvier 1994a) et NF EN ISO 13395 « Qualité de l'eau – Détermination de l'azote nitreux et de l'azote nitrique et de la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique » de décembre 2005 (AFNOR, décembre 2005).

8. DETERMINATION DU PHOSPHORE TOTAL (P_T)

Le P_T a été déterminé à l'aide de tests rapides Spectroquant ® Merck (référence 14543). Le principe réside sur la minéralisation de l'échantillon dans un thermoréacteur à 120°C pendant 30 min, afin de transformer le phosphore organique et les polyphosphates en orthophosphates. Dans une solution sulfurique, les ions orthophosphates forment avec les ions molybdates l'acide phosphomolybdique. Celui-ci est réduit par l'acide ascorbique en bleu de phosphomolybdène («PMB») qui est dosé par photométrie (photomètre SQ 118). Cette méthode est analogue à la norme NF EN ISO 6878 « Qualité de l'eau - Dosage du phosphore - Méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium » d'avril 2005.

9. DETERMINATION DES AMMONIUMS (NH_4^+)

Les ions ammoniums ont été déterminés à l'aide de tests rapides Spectroquant ® Merck (référence 14544). En solution fortement alcaline ne contenant pratiquement que de l'ammoniaque, ce dernier réagit avec les ions hydrochlorite pour donner de la monochloramine. Celle-ci forme avec un phénol substitué un dérivé bleu d'indophénol dosé par photométrie (photomètre SQ 118). Cette méthode est analogue à la norme NF EN ISO 90015-2 « Qualité de l'eau - Dosage de l'ammonium - Partie 2 » de janvier 2000.

10. DETERMINATION DES NITRATES (NO_3^-)

Les nitrates ont été déterminés à l'aide de tests rapides Spectroquant ® Merck (référence 14542). Dans de l'acide sulfurique concentré, les nitrates forment avec un dérivé de l'acide benzoïque un composé nitré rouge foncé qui est dosé par photométrie (photomètre SQ 118).

11. DETERMINATION DE LA MATIERE EN SUSPENSION (MES)

Le protocole suivi est détaillé par la norme NF EN 872 (NF T 90-105) « Qualité de l'eau – Dosage des matières en suspension - Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre » de juin 2005. Des filtres circulaires en fibre de verre (Wathman GF/C) de seuil de coupure 1,2 μm sont préalablement conditionnés par filtration de 100 mL d'eau Milli-Q et séchage pendant 2 h dans une étuve à 105°C. Puis, 1 L d'échantillon est filtré sous vide sur ces filtres conditionnés. Le filtre contenant les matières en suspension est ensuite séché à 105°C pendant 2 h dans une étuve à 105°C. La masse de matières retenues par le filtre est déterminée par pesée différentielle.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE AU COURS DE LA THESE

Articles dans des revues internationales à comité de lecture (3)

P. Pimsee, C. Sablayrolles, P. de Caro, J. Guyomarch, N. Lesage and M. Montréjaud-Vignoles, 2014, Effect of Environmental Parameters on the Water Solubility of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Derivatives Using Taguchi Experimental Design Methodology, World Academy of Science, Engineering and Technology; International Journal of Chemical, Materials Science and Engineering, 8 (2), 35-38

P. Pimsee, C. Sablayrolles, M. Montréjaud-Vignoles, J. Guyomarch, N. Lesage, P. De Caro, 2014, Dynamic behavior of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and derivatives after oils spill in water, Journal of Environmental Protection, sous presse

P. Pimsee, C. Sablayrolles, M. Montrejaud-Vignoles, J. Guyomarch, N. Lesage, P. De Caro, 2012, Effect of oils categories on the distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and derivatives in the environment, International Journal of Environmental Sciences and Development, 3(6), 543-547

Conférences internationales avec comité de lecture et actes (2)

P. Pimsee, C. Sablayrolles, P. de Caro, J. Guyomarch, N. Lesage and M. Montréjaud-Vignoles, 2014, Effect of Environmental Parameters on the Water Solubility of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Derivatives Using Taguchi Experimental Design Methodology, ICESSE 2014 : International Conference on Environmental Sciences and Engineering, Istanbul (Turkey) 17-18 février 2014

P. Pimsee, C. Sablayrolles, M. Montréjaud-Vignoles, J. Guyomarch, N. Lesage, P. De Caro, 2012, Mass balance of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and derivatives after oils spill in water, International Conference on Biology, Environment and Chemistry ICBEC, Bangkok (Thaïlande), 24-25 Novembre 2012.

Conférences par voie d'affiche (1)

P. Pimsee, C. Sablayrolles, P. De Caro, J. Guyomarch, N. Lesage, M. Montréjaud-Vignoles, 2012, Influence of environmental parameters on oil spill effects using Taguchi experimental design methodology, 6th Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Berlin (Allemagne), 20-24 Mai 2012.

Résumé

L'application de la Directive Cadre sur l'Eau et l'obligation de surveillance de la qualité de l'eau pour la consommation humaine et les activités industrielles entraînent une forte demande pour des systèmes d'évaluation et de suivi de la qualité de l'eau. Le projet de recherche MIGR'HYCAR (<http://www.migrhycar.com>) a donc été mis en place pour répondre à un besoin opérationnel et à un défaut d'outils d'aide à la décision adaptés face aux déversements d'hydrocarbures en eaux continentales (rivières, lacs et estuaires) qui représentent plus de 50% des déversements accidentels en France. Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de ce projet et a pour but l'étude du comportement des nappes d'hydrocarbures en milieu contrôlé pour les eaux continentales. A cet effet, il propose une approche expérimentale à l'échelle laboratoire pour étudier les phénomènes agissant sur une nappe d'hydrocarbures déversée : dissolution, étalement, évaporation et volatilisation. Les données expérimentales réunies ont permis de constituer une base de données de référence, qui servira de support aux outils de modélisation mathématique de dérive de nappe d'hydrocarbures développés dans le cadre de ce projet.

Mots clefs : pollution aux hydrocarbures, eaux continentales, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), fraction soluble, SBSE

Abstract

The application of the European Water Framework Directive on water quality for human consumption and industrial activities creates a need for water quality assessment and monitoring systems. The MIGR'HYCAR research project (<http://www.migrhycar.com>) was initiated to provide decisional tools for risks connected to oil spills in continental waters (rivers, lakes and estuaries), which represent more than 50% of accidental spills in France. This work joins within the framework of this project and aims at the study of the behavior of hydrocarbons in a controlled environment for continental waters. For that purpose, the work proposes an experimental approach at laboratory scale to study the phenomena acting in oil spill: dissolution, spreading, evaporation and volatilization. The experimental data allowed establishing a reference database, which will serve as support in tools of oil spill modeling within the framework of this project.

Key-words: oil spill, continental waters, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), water soluble fraction, Sorptive Bar Solid Extraction